



Státní zdravotní ústav
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10

Závěrečná zpráva

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii
(Externí hodnocení kvality)

PT#M/31/2023 (EHK 1364)

Detekce papillomavirů
(Pilotní série)

Praha, prosinec 2023

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	5
4.	Způsob hodnocení	5
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	6
	Příloha 1 – Příloha Závěrečné zprávy (Souhrn výsledků)	
	Příloha 2 – Výsledkové protokoly jednotlivých laboratoří	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/31/2023 je zaměřen na detekci papillomavirů.

Návrh a realizace PT#M/31/2023 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu na pracovišti Expertní skupiny pro zkoušení způsobilosti (ESPT) Státního zdravotního ústavu (SZÚ).

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 každé zúčastněné laboratoři zasílán poštou.

Zprávu vypracoval:

Mgr. Jakub Mrázek, Mgr. Markéta Homolová (NRL pro papillomaviry a polyomaviry, Ostrava)

Zprávu autorizoval: Mgr. Jakub Mrázek (NRL pro papillomaviry a polyomaviry, Ostrava)
Tel. 596 200 400

Dne: 5. 12. 2023

Pracoviště 2 ESPT

<https://szu.cz/sluzby/zkouseni-zpusobilosti/zkouseni-zpusobilosti-pro-lekarskou-mikrobiologii/>
e-mail: ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/31/2023

Identifikace cyklu:	EHK 1364
Název PT:	Detekce papillomavirů amplifikačně
Koordinátor:	Mgr. Jakub Mrázek
Podstata a účel PT:	Ověřit schopnost účastníků EHK identifikovat přítomnost nukleových kyselin lidských papillomavirů (HPV) a určit skupinové případně genotypové zařazení detekovaných HPV.
Kritéria pro účast na PT:	Znalost a technické vybavení pro identifikaci HPV pomocí PCR.
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3 závěrečné zprávy
Hodnocené ukazatele:	Identifikovat přítomnost nukleových kyselin HPV a určit skupinové zařazení a případně genotyp detekovaných HPV.
Způsob přípravy:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Počet účastníků:	29 laboratoří
Termín distribuce vzorků:	12. 9. 2023
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	03. 10. 2023
Označení vzorkovnic:	EHK 1364, PT#M/31, č. 1-5, 12. 9. 2023
Zabezpečení jakosti vzorku včetně testu homogenity a stability:	Viz kapitola 2 závěrečné zprávy
Možné zdroje chyb:	Nedodržení správné laboratorní praxe, nesprávné vyhodnocení testů, nesprávný zápis do formuláře
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4 závěrečné zprávy
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro kvalitativní hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný trojitým opakovaným testováním vzorků v NRL.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Bodové hodnocení. Maximální počet bodů 10, minimální počet bodů 9 pro úspěšnou účast.
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	13. 10. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 26. 12. 2023

2. Způsob přípravy vzorků

2.1 Postup přípravy výchozího materiálu

Vzorky byly připraveny v Národní referenční laboratoři pro papillomaviry a polyomaviry, ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: Doc. RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D., v termínu od 15. 6. do 30. 6. 2023 dle SOP koordinátora.

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 byly připraveny tak, aby obsahovaly různé genotypy (LR, HR) a různé koncentrace těchto genotypů.

Vzorky byly po přípravě a rozplnění stabilizovány lyofilizací. Jednotlivé zkumavky byly označeny štítkem

s číslem a názvem cyklu EHK, číslem vzorku. Tento cyklus EHK je určen pro amplifikační metody detekce HPV, není vhodný pro vyšetření neamplifikačními metodami.

Připravené vzorky ve skleněných lahvičkách se šroubovacím víčkem byly označeny štítkem, vloženy do nepropustných sáčků a ty poté do polystyrénové krabice. Ta byla dopravena řidičem Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě, z NRL pro papillomaviry a polyomaviry do ESPT SZÚ Praha dne 4. 8. 2023 (Záznam o přijetí/předání vzorku).

V ESPT SZÚ byly ze vzorků kompletovány série obsahující vždy vzorek č. 1-5 a přeprava vzorků byla zajištěna přepravním dle regulí ADR pro silniční přepravu.

2.2 Zabezpečení kvality výchozího materiálu, homogenita a stabilita

Zabezpečení homogenity: Homogenita je zajištěna promícháním vzorků před zahájením alikvotování do vzorkovnic. Zabezpečení stability vzorků: Stabilita je zajištěna manipulacemi za sterilních podmínek, vhodným skladováním a testováním libovolných 5 vzorků v tripletu na přítomnost virové nukleové kyseliny HPV před alikvotováním do vzorkovnic, po alikvotování a po konečné lyofilizaci vzorků. Vzorky jsou skladovány při teplotě -70°C . Stabilita vzorků je během transportu zajištěna lyofilizací.

2.3 Rozplnění výchozího materiálu

Vzorky jsou vždy připravované v požadovaném objemu (dle počtu laboratoří přihlášených do programu EHK 1364, PT#M/31), směsné vzorky byly rozplněné do jednotlivých zkumavek o objemu min. 1 ml.

3. Charakteristika materiálu

Simulovaný klinický materiál (5 vzorků). Každý vzorek obsahuje pozadí HPV negativních buněk v koncentraci 300 000 buněk/ml a některé vzorky dále obsahují HPV pozitivní buňky a/nebo izolovanou DNA klonovaných HPV. Vzorky jsou zasílány lyofilizované.

4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků PT#M/31/2023 - EHK - 1364 je prováděno kvalitativně, při diskrepanci se u amplifikačních metod přihlíží i k detekčním možnostem použitých metod, pokud byly dostupné příslušné údaje. Při 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; 1 bod za správné určení absence či přítomnosti nízkorizikových genotypů (LR), případně správné určení genotypového zařazení detekovaných HPV; a 1 bod za určení absence či přítomnosti vysokorizikových genotypů (HR) HPV, případně správné určení genotypového zařazení detekovaných HPV. Pokud použitý diagnostický test neumožňuje detekci LR HPV, hodnotíme výsledek dvěma body a v případě chybného výsledku či závažné chyby detekce 0 body. Maximálním možným počtem získaných bodů je 10. Minimální počet bodů pro získání certifikátu je 9.

5. Vyhodnocení

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31/2023 - EHK-1364 ke dni uzávěrky 3. 10. 2023 vrátilo 29 laboratoří. Dvě laboratoře vyšetřily vzorky souběžně pomocí více amplifikačních metod (laboratoř 539 – kombinaci 2 metod pro konečný výsledek, laboratoř 734 - 2 metody). Celkem bylo hodnoceno 30 výsledkových protokolů ze 29 laboratoří.

Pro amplifikační metody laboratoře použily různé dostupné diagnostické sety či in house metody, které detekují skupiny či jednotlivé genotypy HPV v různém rozsahu (Tabulka 1).

Tabulka 1. Přehled testů použitých v EHK 1364 pro amplifikační metody detekce HPV.

Test	Výrobce	Počet laboratoří
Cobas 4800 HR HPV panel, HPV 16/18	Roche	8
Cobas 6800 HR HPV panel, HPV 16/18	Roche	1
Anyplex II HPV28 Detection	Seegene	1
GeneXpert HPV Assay	Cepheid	3
HPV Genotypes 14 Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies	1
HPV 14 Screening and 16,18,45 Typing Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies	2
RQ – HPV detection	Gali	1
AmpliSens HPV 6/11-FRT PCR kit	CRIE Moskow	1
Human Papillomavirus (HPV) Screening PCR Kit	GeneProof	4
"In house" – PCR / restrikční analýza		1
Allplex HPV 28 Detection	Seegene	6
Allplex HR HPV Detection	Seegene	1

Výsledky vyšetření EHK 1364:

Simulované vzorky pro vyšetření přítomnosti a typizace HPV byly připraveny v lyofilizované formě. Laboratoře je před testováním rozpustily v 1 ml média kompatibilním s použitou detekční amplifikační metodou.

Vzorek 1 (HR HPV 16 pozitivní):

Všechny laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV a pokud to testy umožňovaly byl správně určen typ HR HPV 16.

Vzorek 2 (LR HPV negativní, HR HPV negativní):

Všechny laboratoře získaly správný výsledek HPV negativní.

Vzorek 3 (LR HPV 11 pozitivní):

10/29 laboratoří využívající amplifikační metody detekce s detekcí LR typů HPV správně určily ve vzorku LR HPV 11 nebo případně LR HPV pozitivitu. Ostatním laboratořím to diagnostické testy neumožňovaly.

Vzorek 4 (HR HPV 18 pozitivní, HR HPV 45 pozitivní)

28/29 laboratoří správně určily ve vzorku přítomnost HR HPV 18 a HR HPV 45 nebo případně HR HPV pozitivitu. Jedna laboratoř (156) určila nesprávný typ HPV, což je považováno za závažnou chybu, bylo doporučeno přetestování vzorku.

Vzorek 5 (HR HPV 31 pozitivní)

28/29 laboratorních výsledků vyšetření správně identifikovalo HR HPV 31 nebo HR HPV. Jedna laboratoř (156) v tomto vzorku detekovala HPV HR 18. Jedná se o závažnou chybu detekce.

Přehled všech výsledků vyšetření amplifikačními metodami pro jednotlivé laboratoře je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31/2023 (Souhrn výsledků EHK 1364), která je nedílnou součástí této zprávy.

6. Závěr

EHK 1364 - Detekce papillomavirů amplifikační (pilotní série) se zúčastnilo 29 laboratoří, výsledky dodaly všechny laboratoře. Uspělo 28 laboratoří, neuspěla 1 laboratoř. 28 laboratoří vyšetřilo vzorky správně dle očekávaných výsledků se ziskem 10 bodů. Pouze jedna laboratoř (156) uvedla u vzorku č. 4 špatný výsledek, bylo jí doporučeno přetestování vzorku a také tato laboratoř (156) ve vzorku č. 5 detekovala nesprávně HPV HR 18. Jedná se o závažnou chybu detekce. Celkem tato laboratoř obdržela 7 bodů.

Laboratoře, které neuspěly, si mohou objednat edukativní vzorky prostřednictvím webové aplikace SZÚ, a to do 30 dnů po obdržení svých výsledků. Výsledky edukativních vzorků nebudou mít vliv na opravu předchozího neúspěšného výsledku v rámci EHK a slouží pouze jako podklad pro vyřešení případné neshodné práce v laboratoři.

Edukativní vzorky laboratoř obdrží obvyklou cestou v co nejkratším termínu po objednání.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu. Pro zadání reklamace použijte také webovou aplikaci SZÚ.

Konec závěrečné zprávy