



Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě  
Centrum klinických laboratoří  
Oddělení molekulární biologie, NRL pro papillomaviry a polyomaviry  
Partyzánské náměstí 2633/7  
702 00 Ostrava

tel.: +420 774 979 456, e-mail: jakub.mrazek@zuova.cz

# **Závěrečná zpráva**

Mezilaboratorní porovnání

## **Detekce papillomavirů**

**Ostrava, leden 2023**

## Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení MLP	3
2. Příprava vzorků	4
3. Hodnocení	4
4. Závěr	6

Program zkoušení způsobilosti MLP HPV 2022 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace MLP HPV 2022 byly prováděny podle standardního operačního postupu SOP M/31 na pracovišti Centra klinických laboratoří, Oddělení molekulární biologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě (ZÚ).

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, resp. e-mailem. Za správnost výsledků ručí koordinátor MLP.

**Koordinátor:**

Mgr. Jakub Mrázek

Tel: +420 774 979 456

**Zprávu vypracoval:**

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

**Zprávu schválil: RNDr. Ruth Tachezy, PhD.****Dne: 12.1.2023**

---

## 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení

Identifikace cyklu:	MLP 2022
Název PT:	MLP Detekce papillomavirů
Poskytovatel:	Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské náměstí 2633/7, Ostrava, 702 00
Koordinátor:	Mgr. Jakub Mrázek
Subdodavatel a činnosti, které zajišťuje:	Národní referenční laboratoř pro papillomaviry a polyomaviry ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, Odd. molekulární biologie, Partyzánské náměstí 2633/7 Ostrava zajišťuje přípravu a zabezpečuje jakost vzorků.
Podstata a účel PT:	Ověřit schopnost účastníků MLP identifikovat přítomnost nukleových kyselin lidských papillomavirů (HPV) a určit skupinové případně genotypové zařazení detekovaných HPV.
Kritéria pro účast na PT:	Diagnostika HPV
Charakteristika materiálu:	Lyofilizovaný materiál
Hodnocené ukazatele:	Identifikovat přítomnost nukleových kyselin HPV a určit skupinové zařazení a případně genotyp detekovaných HPV.
Způsob přípravy:	Viz SOP M/31
Množství připraveného test. materiálu:	50 sad
Označení vzorkovnic:	HPV 1 – 5
Zabezpečení jakosti vzorku (včetně termínů testů homogenity a stability):	Manipulace se vzorky za sterilních podmínek a příprava vzorků v místnosti vyhrazené pro preamplifikační fázi, testy homogenity a stability před a po lyofilizaci 26.10. 2022, 8.11. 2022 dvěma různými operátory.
Možné zdroje analytických chyb:	Kontaminace v preanalytické či analytické fázi zpracování vzorků
Způsob vyhodnocení výsledků:	Výsledky hodnotí VŠ pracovník odpovědný za příslušný cyklus MLP. 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. Maximálním možným počtem získaných bodů je 10.
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Pro hodnocení je za vztažnou hodnotu považován výsledek získaný v NRL.
Určení maximální směrodatné odchylky:	Bodové hodnocení. Maximální počet bodů 10, minimální počet bodů 9 pro úspěšnou účast.
Termín distribuce:	23. 11. 2022
Způsob distribuce:	Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží dle regulí ADR pro silniční přepravu.
Informace účastníkům (např. pokyny, výsl. formuláře):	
Termín odeslání výsledků účastníky:	do 15. 12. 2022 na předepsaných formulářích
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	do 15. 1. 2023
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	do 15. 1. 2023

## 2. Příprava vzorků

Vzorky byly připraveny v Národní referenční laboratoři pro papillomaviry a polyomaviry, v Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě, vedoucí: RNDr. Ruth Tachezy, PhD., v termínu od 1.10. 2022 do 20. 11. 2022 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 MPL 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 stabilizovány lyofilizací. Jednotlivé zkumavky byly označené štítkem číslem vzorku. Tento cyklus MPL je určen pro amplifikační metody detekce HPV, není vhodný pro vyšetření neamplifikačními metodami.

## 3. Hodnocení

Celkem byly dne 23. 11. 2022 v rámci MLP HPV 2022 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 10 laboratoří. Vzorek 1 byl negativní, vzorek 2 obsahoval HR HPV 16, vzorek 3 byl pozitivní na LR HPV 6, vzorek 4 obsahoval HR HPV 18 a vzorek 5 byl pozitivní na LR HPV 11 a HR HPV 16.

### Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků MLP HPV 2022 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 jednoho vzorku je možno získat max 2 body, jeden za správné určení absence či přítomnosti nízkorizikových genotypů (LR) a jeden 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 0 body. Za nesprávný výsledek považujeme falešně pozitivní a falešně negativní výsledek, případně chybné určení typu HPV. 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 MLP HPV 2022 ke dni uzávěrky 15. 12. 2022 vrátilo 10 laboratoří.

Tři laboratoře vyšetřily vzorky souběžně pomocí více amplifikačních metod. Celkem bylo hodnoceno 14 výsledkových protokolů z 10 laboratoří.

### 3.2 Hodnocení Mezilaboratorního porovnání – amplifikační metody detekce HPV

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 Mezilaboratorním porovnání pro amplifikační metody detekce HPV.**

Test	Výrobce (Distributor)	Počet laboratoří
Cobas 4800 HR HPV panel, HPV 16/18	Roche (Roche)	5
Anyplex II HPV28 Detection	Seegene	3
Anyplex II HPV HR Detection	Seegene	2
QIAscreen HPV PCR Test	Qiagen	1
RQ – multi HPV detection	AB Analytica	1
Human Papillomavirus (HPV) screening PCR Kit	GeneProof	1
Restrikční analýza	IN-HOUSE	1

#### Výsledky vyšetření MLP 2022:

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 (HPV negativní)

Všechny laboratoře získaly správný výsledek HPV negativní.

#### Vzorek 2 (HR HPV 16 pozitivní):

Všechny laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV 16.

#### Vzorek 3 (LR HPV 6 pozitivní):

Všechny laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost LR HPV a HR HPV negativní a pokud to testy umožňovaly byl správně určen typ LR HPV 6. Dvě laboratoře v tomto vzorku uvedly přítomnost HPV 6,11 – použitá metoda neumožňuje jejich rozlišení. V tomto případě je důležité, aby reportování výsledku bylo jednoznačné a nemohlo být interpretováno jako prokázána přítomnost obou typů, nýbrž jako přítomnost typu 6 a/nebo 11.

#### Vzorek 4 (HR HPV 18 pozitivní):

Všechny laboratoře, kromě laboratoře 355, správně identifikovaly HR HPV 18. Laboratoř 355 v tomto vzorku detekovala pozitivitu typu HR HPV 39, jedná se o závažnou chybu detekce, byla tedy laboratoři doporučena opravná série.

**Vzorek 5 (LR HPV 11 pozitivní, HR HPV 16 pozitivní)**

Všechny laboratoře správně identifikovaly HR HPV 16 a pokud to testy umožňovaly také LR HPV 11. Dvě laboratoře v tomto vzorku uvedly přítomnost HPV 6,11 – použitá metoda neumožňuje jejich rozlišení. V tomto případě je důležité, aby reportování výsledku bylo jednoznačné a nemohlo být interpretováno jako prokázána přítomnost obou typů, nýbrž jako přítomnost typu 6 a/nebo 11.

Jedna laboratoř uvedla navíc falešně pozitivní výsledek HR HPV 18, byla doporučena opravná série.

Přehled všech výsledků vyšetření amplifikačními metodami pro jednotlivé laboratoře je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro MLP 2022 (Souhrn výsledků MLP 2022), která je nedílnou součástí této zprávy.

**4. Závěr**

Z 10 přihlášených laboratoří v rámci MLP 2022 Detekce papillomavirů 10 laboratoří vrátilo výsledkové protokoly. Celkem bylo hodnoceno 14 výsledkových protokolů. 8 laboratoří vyšetřilo vzorky správně se ziskem 10 bodů.

Laboratoř 508 uvedla u vzorku 5 falešně pozitivní výsledek HR HPV 18, obdržela 8 bodů, byla této laboratoři doporučena opravná série.

Laboratoř 554 vzhledem k použité metodě nerozlišuje přítomnost typu HPV 6,11 a ve výsledkové zprávě neuvedla ve dvou případech, zda se jedná o přítomnost obou typů či jednoho z nich. V tomto případě je důležité, aby reportování výsledku bylo jednoznačné a nemohlo být interpretováno jako prokázána přítomnost obou typů, nýbrž jako přítomnost typu 6 a/nebo 11. Tato laboratoř použila 2 metody detekce. Druhou metodou sérii detekovala správně, za obě série obdržela 10 bodů.

Laboratoř 355 rovněž nerozlišuje přítomnost typu HPV 6,11 a ve výsledkové zprávě neuvedla ve dvou případech, zda se jedná o přítomnost obou typů či jednoho z nich. Navíc chybně identifikovala v jednom vzorku místo HPV HR 18 typ HPV HR 39. Této laboratoři byla doporučena opravná série, protože v tomto cyklu obdržela pouze 8 bodů.