



Státní zdravotní ústav  
Expertní skupina pro zkoušení způsobilosti  
Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7001 akreditovaný ČIA  
podle ČSN EN ISO/IEC 17043: 2010  
Šrobárova 49/48, 100 00, Praha 10



# **Závěrečná zpráva**

Zkoušení způsobilosti v lékařské mikrobiologii  
(Externí hodnocení kvality)

**PT#M/31-1/2021 (EHK 1212)**

**Detekce papillomavirů amplifikačně**

**Praha, listopad 2021**

## Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
4.	Způsob hodnocení	4
5.	Vyhodnocení	5
6.	Závěr	6
	Příloha 1 – výsledkový protokol jednotlivé laboratoře	
	Příloha 2 – tabulka se souhrnem výsledků	

Program zkoušení způsobilosti PT#M/31-1/2021 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace PT#M/31/2021 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.

### **Zprávu vypracoval:**

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

### **Zprávu autorizoval:**

MUDr. Jana Kozáková

Tel: 267 082 260

Dne: 23.11.2021

### **Pracoviště 2 ESPT**

<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

e-mail: [ehk@szu.cz](mailto:ehk@szu.cz)

## 1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT# M/31-1/2021

Identifikace cyklu:	EHK 1212
Název:	Detekce papillomavirů amplifikačně
Koordinátor:	MUDr. Kozáková
Subdodavatel:	Národní referenční laboratoř pro papillomaviry a polyomaviry v Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT), Odd. molekulární mikrobiologie, U Nemocnice 1, 128 20 Praha 2
Charakteristika materiálu:	Viz kapitola 3
Podstata a účel PT/EHK:	Ověřit schopnost účastníků EHK identifikovat přítomnost nukleových kyselin lidských papilomavirů (HPV) a určit skupinové případně genotypové zařazení detekovaných HPV.
Kritéria pro účast na PT/EHK:	Znalost a technické vybavení pro detekování NK papillomavirů
Způsob přípravy:	viz kapitola 2
Množství připravovaného testovaného materiálu:	cca pro 40 laboratoří
Označení vzorkovnic:	EHK 1212, PT # M/31, č. 1 – 5, 14.09.2021
Zabezpečení kvality vzorku:	Manipulace se vzorky za sterilních podmínek a příprava vzorků v místnosti vyhrazené pro preamplifikační fázi
Test homogenity a stability:	testy homogenity a stability před a po lyofilizaci 21. 6. 2021, 15. 7. 2021 dvěma různými operátory.
Podmínky distribuce a uchování vzorků:	přeprava a krátkodobé uchování při 2 – 8 ° C, dlouhodobě uchovávat při -18°C
Možné zdroje chyb:	Kontaminace v preanalytické či analytické fázi zpracování vzorků
Počet účastníků:	36
Termín distribuce:	14.09.2021
Způsob distribuce:	přepravní službou (zajišťuje Koordinační pracoviště)
Předání výsledků:	písemně na předepsaných formulářích
Způsob vyhodnocení výsledků:	Viz kapitola 4
Určení maximální směrodatné odchylky:	Neprovádí se
Určení přijaté vztažné hodnoty:	Za vztažnou hodnotu je považován výsledek získaný v NRL
Termín uveřejnění očekávaných výsledků:	15.11.2021
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	Do 28.12.2021

## 2. Způsob přípravy 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 22. 4. 2021 do 20. 8. 2021 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. Tento cyklus EHK je určen pro amplifikační metody detekce HPV, není vhodný pro vyšetření neamplifikačními metodami. Připravené vzorky v polypropylénových zkumavkách se šroubovacím víčkem byly označeny štítkem, 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 1. 7. 2021 (Záznam o přijetí/předání vzorku).

V SZÚ Praha byly vzorky lyofilizovány, ze vzorků kompletovány série obsahující vždy vzorek č. 1-5 a přeprava vzorků byla zajištěna přepravcem dle regulí ADR pro silniční přepravu.

## 3. Charakteristika materiálu

Celkem byly dne 14. 9. 2021 v rámci PT#M/31-1/2021 - EHK-1212 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 36 laboratoří. Vzorek 1 byl pozitivní na HR HPV 16, vzorek 2 obsahoval LR HPV 6 a HR HPV 45, vzorek 3 byl pozitivní na HR HPV 18, vzorek 4 obsahoval LR HPV 11 a HR HPV 16 a vzorek 5 byl negativní.

## 4. Způsob hodnocení

Hodnocení výsledků PT#M/31-1/2021 - EHK-1212 je prováděno kvalitativně, při diskrepanci se u amplifikačních metod přihlíží i k detekčním možnostem použitých metod, pokud byly dostupné. 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, 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 0 body. Za nesprávný výsledek považujeme falešně pozitivní a falešně negativní výsledek. 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.

## 5. Vyhodnocení

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31-1/2021 - EHK-1212 ke dni uzávěrky 5. 10. 2021 vrátilo 35 laboratoří. Laboratoř 329 obdržela vzorky pro neamplifikační metody, ale použila metody amplifikační, což je přípustné. Výsledky zaslala na výsledkovém listu pro EHK-1213 (neamplifikační metody), hodnocena byla v okruhu EHK-1212.

Tři laboratoře použily pro vyšetření vzorků souběžně více amplifikačních metod (laboratoř 369 – 2 metody, laboratoř 696 – 3 metody, laboratoř 736 – 5 metod). Celkem bylo hodnoceno 43 výsledkových protokolů ze 35 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 1212 pro amplifikační metody detekce HPV.**

Test	Výrobce (Distributor)	Počet laboratoří
Cobas 4800 HR HPV panel, HPV 16/18	Roche (Roche)	12
Anyplex II HPV28 Detection	Seegene	7
Anyplex II HPV HR Detection	Seegene	2
GeneXpert HPV Assay	Cepheid (Biovendor)	6
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
RQ – multi HPV detection	AB Analitica	1
QIAscreen HPV PCR Test	QIAGEN	1
AmoyDx HPV Genotyping Detection Kit	Amoy Diagnostic	1
Amplisens HPV HCR Genotype, HPV 6/11 Kit	CRIE Moskow (Ecoli SR)	2
Vision Array HPV Chip 1.0	ZytoVision	1
Human Papillomavirus (HPV) screening PCR Kit	GeneProof	4
„in house“ PCR s primery E6/E7 pro detekci 5-ti HR HPV (16, 18, 45, 31, 33) bez rozlišení		1
Alinity m HR HPV AMP kit	Abbott	1
„in house“, typizace pomocí kapilárního sekvenátoru	Elisabeth Pharmacon	1
„in house“ PCR, primery CPSGB, sekvenace		1

### Výsledky vyšetření EHK 1212:

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 6 pozitivní, HR HPV 45 pozitivní):

Všechny laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost LR HPV a HR HPV, a pokud to testy umožňovaly byl správně určen typ LR HPV 6 a HR HPV 45.

**Vzorek 3 (HR HPV 18 pozitivní):**

42/43 laboratorních výsledků vyšetření správně identifikovalo HR HPV 18 nebo HR HPV. Jedna laboratoř (530) v tomto vzorku detekovala falešnou pozitivitu na další typy HR HPV, jedná se o závažnou chybu detekce.

**Vzorek 4 (LR HPV 11 pozitivní, HR HPV 16 pozitivní)**

Z 12/14 laboratoří využívajících amplifikační metody detekce s detekcí LR typů HPV správně určily ve vzorku přítomnost LR HPV 11 nebo případně LR HPV pozitivitu. Dvě laboratoře (16 a 355) měly falešně negativní výsledek, bylo jim doporučeno přetestování vzorku. 42/43 laboratorních výsledků vyšetření správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV, a pokud to testy umožňovaly, byl určen typ HR HPV 16. Laboratoř (530) v tomto vzorku detekovala falešnou pozitivitu na další typy HR HPV, jedná se o závažnou chybu detekce.

**Vzorek 5 (HPV negativní)**

Všechny laboratoře získaly správný výsledek HPV negativní.

Přehled všech výsledků vyšetření amplifikačními metodami pro jednotlivé laboratoře je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31-1/2021 (Souhrn výsledků EHK 1212), která je nedílnou součástí této zprávy.

## 6. Závěr

Z 36 přihlášených laboratoří v rámci PT#M/31-1/2021, EHK 1212 Detekce papillomavirů 35 laboratoří vrátilo výsledkové protokoly. Do hodnocení byly zahrnuty i výsledky laboratoře 329, která se přihlásila do cyklu EHK 1213 pro neamplifikační metody a vzorky vyšetřila amplifikačními metodami, což je přípustné. Celkem bylo hodnoceno 43 výsledkových protokolů. Celkem 33 laboratoří vyšetřilo vzorky správně podle očekávaných výsledků se ziskem 10 bodů. Tyto laboratoře mohou dostat certifikát.

Laboratoře 16 a 355 měly falešně negativní výsledek při vyšetření vzorku č. 4 a celkem získaly 9 bodů. Bylo jim doporučeno přetestování tohoto vzorku. Po sdělení výsledku mohou získat certifikát. Laboratoř 530 při vyšetření vzorku č. 3 a č. 4 kromě správně detekovaného typu HPV měla falešně pozitivní výsledek na další typ HR HPV. Této laboratoři byla doporučena opravná série, protože v tomto cyklu obdržela pouze 6 bodů.

V případě reklamací vyhodnocení série, prosím, postupujte dle reklamačního řádu.

KONEC ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY