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/31/2024 (EHK 1421)

Detekce papillomavirů

Praha, prosinec 2024

Obsah

1.	Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2.	Způsob přípravy vzorků	4
3.	Charakteristika materiálu	4
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/31/2024 je zaměřen na detekci papillomavirů.
Návrh a realizace PT#M/31/2024 byly prováděny podle standardního operačního postupu koordinátora programu 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 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 pro každou zúčastněnou laboratoř k dispozici ve webové aplikaci SZÚ v odkazu: http://ehk.szu.cz/EHK10/ po přihlášení kódem laboratoře a heslem.

Zprávu vypracoval:

Mgr. Markéta Homolová (NRL pro papillomaviry a polyomaviry, Ostrava), tel. 596 200 242

Zprávu autorizoval:

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

Dne: 19. 12. 2024

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/31/2024

Identifikace cyklu:	EHK 1421
Název PT:	Detekce papillomavirů
Koordinátor:	Mgr. Markéta Homolová
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:	33 laboratoří
Termín distribuce vzorků:	17. 9. 2024
Informace účastníkům:	viz Informace pro účastníky zaslané spolu se vzorky
Termín pro odeslání výsledků účastníky (stop termín):	08. 10. 2024
Označení vzorkovnic:	EHK 1421, PT#M/31, č. 1-5, 17. 9. 2024
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:	17. 10. 2024
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	31. 12. 2024

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 v termínu od 1. 7. do 30. 7. 2024 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 označené štítkem s číslem a názvem cyklu EHK, číslem vzorku. Tento cyklus EHK je určen pro amplifikační metody detekce HPV.

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. 9. 2024.

V ESPT SZÚ byly ze vzorků kompletovány série obsahující vždy vzorek č. 1-5 a přeprava vzorků byla zajištěna přepravcem 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 1421, 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/31/2024 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 (např. určení falešně pozitivního genotypu HR HPV). Maximálním možným počtem získaných bodů je 10. Minimální počet bodů pro získání certifikátu je 9.

5. Vyhodnocení

Vyplněné protokoly vyšetření EHK1421 ke dni uzávěrky 8. 10. 2024 vrátilo 33 laboratoří. Celkem bylo hodnoceno 33 výsledkových protokolů ze 33 laboratoří, včetně jedné laboratoře detekující HPV neamplifikační metodou (Tabulka 2). 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 1421 pro amplifikační metody detekce HPV.

Test	Výrobce	Počet laboratoří
Allplex™ II HPV28 Detection	Seegene	9
Allplex™ HPV HR Detection	Seegene	1
Cobas® 4800 HR HPV test	Roche	7
Cobas® 6800 HR HPV test	Roche	1
eSens HPV HR 14 genotype QT PCR kit	Ecoli	1
eSens HPV LR 6/11 genotype QL PCR kit	Ecoli	1
GeneXpert HPV Assay	Cepheid	3
HPV 14 Screening 16,18,45 Typing Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies	2
HPV Genotypes 14 Typing Real-TM Quant	Sacace Biotechnologies	1
Human Papillomavirus (HPV) screening PCR Kit	GeneProof	4
"In house"- PCR/restrikční analýza	-	1
PaxWiew® HPV 20 Genotyping MPCR-ULFA kit	PaxGenBio	1

Tabulka 2. Přehled testů použitých v EHK 1421 pro neamplifikační metody detekce HPV.

digene® HC2 High-Risk HPV DNA Test	Qiagen	1

Výsledky vyšetření EHK 1421:
Simulované vzorky pro vyšetření přítomnosti a typizaci HPV byly připraveny v lyofilizované formě. Laboratoře je před testováním rozpustily v 1 ml média kompatibilním s použitou detekční amplifikační metodou.

Vzorek 1 (LR Negativní, HR HPV 16 Pozitivní):

Jedna laboratoř (089) chybně navíc detekovala genotypy HPV 66, 69. Ostatní laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV 16.

Vzorek 2 (LR HPV11 Pozitivní, HR HPV 16 Pozitivní):

14 laboratoří detekující genotyp LR HPV správně určily typ HPV 11 nebo LR HPV pozitivitu. Jedna laboratoř (355) nedetekovala u tohoto vzorku pozitivitu LR HPV. Ostatním laboratořím to diagnostické testy neumožňovaly. Všechny laboratoře správně určily ve vzorku přítomnost HR HPV 16 nebo případně HR HPV pozitivitu. Jedna laboratoř (369) v tomto vzorku navíc chybně detekovala HR HPV 31.

Vzorek 3 (LR Negativní, HR HPV 33 Pozitivní, HR HPV 52 Pozitivní):

Všechny laboratoře správně určily LR HPV a všechny laboratoře správně detekovaly ve vzorku přítomnost HR HPV, případně typ HR HPV 33 a HR HPV 52.

Vzorek 4 (LR Negativní, HR HPV 31 Pozitivní, HR HPV 45 Pozitivní):

15 laboratoří detekující LR HPV správně určily negativní LR HPV. Všechny laboratoře správně určily HR HPV. Laboratoře 016 a 317 v tomto vzorku navíc chybně detekovaly HR HPV 18, což je považováno za závažnou chybu, bylo doporučeno přetestování vzorku. Laboratoř 541 a 702 nereportovali pozitivitu HPV 31, jedná se o chybnou interpretaci výsledku.

Vzorek 5 (LR Negativní, HR Negativní):

28 laboratoří tento vzorek správně detekovalo jako negativní. Laboratoř 089 v tomto vzorku navíc detekovala typ HPV 69. Čtyři laboratoře (365, 494, 530, 552) v tomto vzorku navíc detekovaly HR HPV 16, HR HPV 45 nebo případně HR HPV pozitivitu, což je považováno za závažnou chybu, bylo doporučeno přetestování vzorku.

Přehled všech výsledků vyšetření amplifikačními metodami pro jednotlivé laboratoře je uveden v přehledové tabulce v Příloze Závěrečné zprávy pro PT#M/31/2024 (Souhrn výsledků EHK 1421), která je nedílnou součástí této zprávy.

6. Závěr

EHK 1421 - Detekce papillomavirů se zúčastnilo 33 laboratoří, výsledky dodaly všechny laboratoře. Uspělo 28 laboratoří, neuspělo 5 laboratoří. 22 laboratoří vyšetřilo vzorky správně dle očekávaných výsledků se ziskem 10 bodů. Laboratoře 016 a 317 uvedly navíc HR HPV 18 u vzorku 4. Laboratoř 369 uvedla navíc HR HPV 31 u vzorku 2. Laboratoř 355 neuvedla LR HPV 11 u vzorku 2. Laboratoř 541 a 702 nereportovali pozitivitu HPV 31, jedná se o chybnou interpretaci výsledku. Těmto 6 laboratořím doporučujeme přetestování vzorku. Celkem tyto laboratoře obdržely 9 bodů. Dalších pět laboratoří (089, 365, 494, 530, 552) nesprávně detekovalo vzorek 5, tyto laboratoře neuspěly. Doporučujeme přetestování vzorku z důvodu velmi závažné chyby detekce. Laboratoři s neamplifikační metodou doporučujeme testovat PCR detekčním systémem, protože nesplňuje kritérium PCR metodiky. 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