



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/31-2/2020 (č. 1145)

**Detekce papillomavirů
neamplifikačně**

Praha, listopad 2020

Obsah

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení PT (Proficiency Testing)	3
2. Příprava vzorků	4
3. Hodnocení	4
4. Závěr	5

Program zkoušení způsobilosti PT#M/31-2/2020 byl zaměřen na detekci papillomavirů. Návrh a realizace PT#M/31/2020 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 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.

**Koordinátor:**

MUDr. Barbora Macková

Tel: 267 082 101

Zprávu vypracoval:

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

Zprávu schválil: MUDr. Barbora Macková**Dne: 27. 11. 2020****Pracoviště 2 ESPT**<http://www.szu.cz/programy-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore>

ehk@szu.cz

1. Souhrnné informace o přípravě a hodnocení

Identifikace cyklu:	EHK 1145
Název PT:	PT#M/31-2/2020 Detekce papillomavirů
Poskytovatel:	ESPT, Šrobárova 49/48, Praha 10, 100 00
Vedoucí:	Ing. Vrbíková
Subdodavatel a činnosti, které zajišťuje:	Národní referenční laboratoř pro papillomaviry a polyomaviry v Ústavu hematologie a krevní transfuze (UHKT), Odd. imunologie, U Nemocnice 1, 128 20 Praha 2 zajišťuje přípravu a zabezpečuje jakost vzorků.
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:	Diagnostika HPV
Charakteristika materiálu:	Materiál v transportním médiu
Hodnocené ukazatele:	Identifikovat přítomnost nukleových kyselin HPV a určit skupinové zařazení detekovaných HPV.
Způsob přípravy:	Viz SOP M/31
Množství připraveného test. materiálu:	10 sad
Označení vzorkovnic:	EHK 1145, PT#M/31-2, č. 1 – č. 5, 15. 9. 2020
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 16. 7. 2020, 10. 8. 2020 dvěma šaržemi kitu a dvěma různými operátory, skladování při teplotě nižší než -18°C do distribuce účastníkům.
Možné zdroje analytických chyb:	Kontaminace v analytické fázi zpracování vzorků, vadná šarže setu
Způsob vyhodnocení výsledků:	Výsledky hodnotí VŠ pracovník odpovědný za příslušný cyklus EHK. 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:	15. 9. 2020
Způsob distribuce:	Přeprava vzorků je zajišťována přepravcem se službou přeprava nebezpečného zboží dle regulí ADR pro silniční přepravu.
Informace účastníkům (např. pokyny, výsl. formuláře):	http://www.szu.cz/programy-kouseni-zpusobilosti-pro-mikrobiologicke-laboratore
Termín odeslání výsledků účastníky:	do 6. 10. 2020 na předepsaných formulářích
Termín uveřejnění předběžných výsledků:	do 10 dnů po předání výsledků k hodnocení
Termín uveřejnění závěrečné zprávy:	do 12 týdnů po předání výsledků k hodnocení

2. Příprava 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 7. 5. 2020 do 10. 8. 2020 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 v komerčním transportním médiu (STM, Qiagen). Vzorky jsou připraveny tak, aby obsahovaly různé genotypy (LR, HR) a různé koncentrace těchto genotypů. Vzorky byly po přípravě a rozplnění po 1 ml skladovány při + 4-8 °C. Jednotlivé zkumavky byly označeny štítkem s číslem a názvem cyklu EHK, číslem vzorku. Tento cyklus EHK je určen primárně pro neamplifikační metodu detekce HPV (digene hc2 Hybrid Capture, Qiagen), sadu lze vyšetřit i amplifikačními metodami. Připravené vzorky v polypropylénových zkumavkách se šroubovacím víčkem byly označeny štítkem, vloženy do nepropustných sáčků a ty poté do polystyrénové krabice s chladicími vložkami. Ta byla osobně dopravena z NRL pro papillomaviry a polyomaviry do SZÚ Praha dne 19. 8. 2020 (Záznam o přijetí/předání vzorku).

V SZÚ Praha byly vzorky uloženy na teplotu nižší než -18°C, ze vzorků kompletovány série obsahující vždy vzorek č. 1 - 5 a přeprava vzorků byla zajištěna přepravním prostředkem dle regulí ADR pro silniční přepravu.

3.1 Hodnocení

Celkem byly dne 15. 9. 2020 v rámci PT#M/31-2/2020 - EHK-1145 (Detekce papillomavirů) rozeslány vzorky do 7 laboratoří. Vzorek 1 byl pozitivní na LR HPV 6 a HR HPV 45, vzorek 2 obsahoval HR HPV 16, vzorek 3 byl negativní na HPV, vzorek 4 obsahoval HR HPV 52 a vzorek 5 byl pozitivní na HR HPV 18.

Princip hodnocení:

Hodnocení výsledků PT#M/31-2/2020 - EHK-1145 je prováděno kvalitativně, při diskrepanci se u neamplifikačních metod přihlíží i k výsledkům semikvantitativním, pokud byly dostupné. 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 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 počtem bodů 8 a méně doporučujeme vyžádání opravné série vzorků. Laboratořím s jedním chybným výsledkem, dle závažnosti, doporučujeme přetestování daného vzorku.

Vyplněné protokoly vyšetření PT#M/31-2/2020 - EHK-1145 ke dni uzávěrky 6. 10. 2020 vrátilo 5 laboratoří. Jedna laboratoř (329) vyšetřila tento cyklus metodami amplifikačními, což je přípustné, její výsledky byly proto vyhodnoceny v rámci PT#M/31-1/2020.

3.2 Hodnocení EHK 1145 – neamplifikační metody detekce HPV

Pro neamplifikační metody dvě laboratoře použily hc2 HPV Test Qiagen (Dynex), který umožňuje detekovat LR i HR HPV genotypy a 2 laboratoře použily hc2 HR HPV Test Qiagen (Dynex), který detekuje pouze HR HPV typy (Tabulka 1).

Tabulka 1. Přehled testů použitých v EHK 1145 pro neamplifikační metodu detekce HPV.

Test	Výrobce (Distributor)	Počet laboratoří
digene hc2 HPV Test	Qiagen (Dynex)	2
digene hc2 HR HPV Test	Qiagen (Dynex)	2

Výsledky vyšetření EHK 1145:

Simulované vzorky pro vyšetření přítomnosti a typizace HPV byly připraveny do 1 ml komerčního transportního média (STM, Qiagen). Žádná laboratoř neměla falešně pozitivní ani falešně negativní výsledek vyšetření.

Přehled výsledků vyšetření v jednotlivých laboratořích je uveden v Tabulce 2.

Tabulka 2. Přehled vyšetření a bodový zisk v EHK 1145 v jednotlivých laboratořích.

TEST	KÓD LAB	VZOREK č.1		VZOREK č.2		VZOREK č.3		VZOREK č.4		VZOREK č.5		BODY
		LR RLU/CO	HR RLU/CO	LR RLU/CO	HR RLU/CO	LR RLU/CO	HR RLU/CO	LR RLU/CO	HR RLU/CO	LR RLU/CO	HR RLU/CO	
hc2 HPV Test	11	82,08	91,04	0,25	4,38	0,24	0,31	0,50	432,58	0,27	100,69	10
hc2 HPV Test	344	168,34	106,95	0,24	7,11	0,26	0,66	0,70	456,27	0,29	268,84	10
hc2 HR HPV Test	736	-	77,77	-	7,54	-	0,33	-	700,69	-	203,00	10
hc2 HR HPV Test	781	-	215,44	-	10,00	-	0,33	-	766,08	-	220,26	10
hc2 HPV Test	NRL PV 1	169,58	174,36	0,16	8,79	0,23	0,25	0,57	680,14	0,24	190,92	
hc2 HPV Test	NRL PV 2	177,60	179,34	0,18	9,50	0,17	0,18	0,53	720,28	0,24	213,56	
POŽADOVANÝ VÝSLEDEK		POZ	POZ	neg	POZ	neg	neg	neg	POZ	neg	POZ	

RLU/CO – relativní světelné jednotky/cut-off

4. Závěr

Z 6 přihlášených laboratoří v rámci PT#M/31-2/2020 - EHK-1145 Detekce papillomavirů 4 laboratoře vrátili výsledkový protokol. Všechny získaly plný počet bodů a bylo doporučeno vydání certifikátu pro neamplifikační metodu vyšetření HPV.

V případě reklamací vyhodnocení série postupujte prosím dle reklamačního řádu.