

## EXTERNÍ HODNOCENÍ KVALITY

### EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

## EHK – 787 a 788 Stanovení HBV DNA a HCV RNA

*Pavel Fritz*

### Charakteristika sérií EHK – 787 a 788 a způsob hodnocení

Série EHK – 787 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK – 788 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 30 laboratoří, z nichž 2 testovaly pouze HBV-DNA, 2 pouze HCV-RNA a zbývajících 26 oba markery.

Obě série tvořilo shodně 6 vzorků, z nichž 3 byly pozitivní a 3 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Trojice pozitivních vzorků byly připraveny vždy z jednoho pozitivního séra, naředěného v negativní plazmě na různou konečnou koncentraci cílového markeru. Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích (vzorek č. 2 v sérii EHK – 787 a vzorek č. 1 v sérii EHK – 788) sloužily účastníkům k ověření citlivosti používaných metod a nebyly součástí bodového hodnocení. U zbývajících vzorků znamenal každý neshodný výsledek pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“.

Vzorky byly distribuovány v NRL-VH od 2. do 12. 4. 2013, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 2. 5. 2013.

### Koncentrace cílových markerů v pozitivních vzorcích

V sérii EHK – 787 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH zhruba  $1,0 \times 10^2$  IU/ml (vzorek 2),  $1,1 \times 10^3$  (vzorek 6) a  $1,3 \times 10^4$  (vzorek 4). V sérii EHK – 788 činily naměřené koncentrace HCV-RNA zhruba  $1,2 \times 10^2$  IU/ml (vzorek 1),  $9,0 \times 10^2$  (vzorek 3) a  $6,8 \times 10^3$  (vzorek 6). Výsledky získané v referenční laboratoři však nemohou být chápány jako přesný standard. Při stanovování koncentrace nukleových kyselin metodou PCR lze očekávat určitý rozptyl hodnot v závislosti na typu použité soupravy a dalších specifických podmínkách.

Přestože nejslabší pozitivní vzorky (v obou případech okolo 100 IU/ml) nebyly hodnoceny, připomínáme, že za hranici dobré citlivosti metod pro oba typy nukleových kyselin je považována koncentrace cílového markeru okolo 50 IU/ml.

Celkové rozložení chyb ukazuje tabulka 1, kvantitativní hodnoty získané účastníky jsou shrnuty v tabulkách 2–3

(Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy figuruje ve všech tabulkách pod pořadovým č. 1).

### Výsledky laboratoří

U bodovaných vzorků chybovaly pouze 2 laboratoře ze 30 zúčastněných. Laboratoř s poř. č. 3 vykázala jednu falešnou pozitivitu HBV-DNA (vzorek 3 / EHK787), laboratoř č. 26 dvě falešné positivity HCV-RNA (vzorky 2 a 5 / EHK – 788).

U nebodovaných vzorků (nejslabší pozitivní vzorek v obou sériích) prokázalo nižší citlivost svých metod celkem 12 laboratoří, z toho 5 u HBV-DNA, 4 u HCV-RNA a 3 u obou markerů.

Kvantitativní vyjádření pozitivních výsledků nebylo povinné a netvořilo součást bodového hodnocení. Mezi účastníky vykazujícími nestandardní hodnoty je třeba uvést v první řadě laboratoř č. 3, která má širší problém s detekcí HBV-DNA. Na jednu stranu dokázala zachytit nejslabší pozitivní vzorek, současně však vykázala jednu falešnou pozitivitu a její systém kvantifikace není funkční – všechny pozitivní vzorky (včetně falešné positivity) udávány v rozmezí  $10^3$  až  $10^4$ . Z dalších laboratoří lze zmínit pracoviště č. 16, jemuž selhala kvantifikace HBV-DNA u vzorku 6 (udáno pouhých 8 IU/ml), nebo pracoviště č. 4, které poněkud nadhodnotilo HCV-RNA u vzorků 3 a 6. Celkem kvantifikovalo své výsledky 23 ze 30 účastníků (77 %).

Na závěr lze shrnout, že výsledky testování HBV-DNA a HCV-RNA v roce 2013 nevybočily výrazně z obrazu poskytnutého předcházejícími sériemi. Dvě chybné laboratoře u bodovaných vzorků (po jedné u každého z obou markerů) lze považovat za průměrný počet, přičemž všechny neshodné výsledky měly charakter falešných pozitivit. Z hlediska citlivosti použitých metod nadále platí, že více než třetina účastníků má problém (u jednoho nebo u obou markerů) zachytit pozitivní vzorek o koncentraci okolo 100 IU/ml. Na druhou stranu je třeba uvést, že druhý nejslabší vzorek zachytilo již 100 % účastníků, přestože koncentrace cílových markerů byla jen mírně silnější (zhruba o jeden řád u HBV-DNA a o něco přes půl řádu u HCV-RNA).

*Mgr. Pavel Fritz*

*NRL pro virové hepatitidy, SZÚ-CEM*

*Tabulky následují na dalších stránkách.*

Tabulka 1: SOUHRNNÉ VÝSLEDKY EHK – 787 a 788

Lab.	HBV-DNA						HCV-RNA					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	N	+	N	+++	N	++	+	N	++	N	N	+++
1-NRL	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
2	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
3	N	P	P	P	N	P	-	-	-	-	-	-
4	N	N	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
5	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
6	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
7	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
8	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
9	-	-	-	-	-	-	P	N	P	N	N	P
10	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
11	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
12	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
13	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
14	N	N	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
15	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
16	N	N	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
17	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
18	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
19	-	-	-	-	-	-	P	N	P	N	N	P
20	N	N	N	P	N	P	-	-	-	-	-	-
21	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
22	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
23	N	N	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
24	N	N	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
25	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
26	N	N	N	P	N	P	P	P	P	N	P	P
27	N	N	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
28	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
29	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N	P
30	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P
31	N	P	N	P	N	P	P	N	P	N	N	P

(P = pozitivní, N = negativní)

V záhlaví tabulky je uveden cílový marker, číslo vzorku a správný výsledek (pozitivní vzorky jsou prezentovány jedním až třemi křížky podle koncentrace cílového markeru). Problematické výsledky jsou vybarveny šedě. Vzorky nebyly individuálně kódovány, takže jejich čísla v tabulce jsou shodná s čísly, pod kterými je laboratoře vyšetřovaly. Pořadová čísla laboratoří v tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK. NRL pro VH je v tabulce uvedena pod č. 1.

Tabulka 2: KVANTITATIVNÍ VÝSLEDKY HBV-DNA (EHK – 787)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	+	N	+++	N	++	
1-NRL	N	1,00x10e2	N	1,29x10e4	N	1,13x10e3	IU/ml
2	N	P	N	P	N	P	
3	N	9,60x10e3	6,65x10e3	3,23x10e3	N	1,18x10e3	IU/ml
4	N	N	N	2,56x10e4	N	1,76x10e3	IU/ml
5	N	P	N	P	N	P	
6	N	9,60x10e1	N	2,20x10e4	N	2,17x10e3	IU/ml
7	N	3,72x10e1	N	2,52x10e4	N	1,54x10e3	IU/ml
8	N	<5,00x10e1	N	7,40x10e3	N	8,60x10e2	IU/ml
10	N	0,60x10e1	N	5,53x10e3	N	3,39x10e2	IU/ml
11	N	P	N	P	N	P	
12	N	9,66x10e1	N	2,05x10e4	N	2,37x10e3	IU/ml
13	N	0,60x10e1	N	2,48x10e3	N	1,69x10e2	IU/ml
14	N	N	N	P	N	P	
15	N	9,43x10e1	N	2,10x10e4	N	2,26x10e3	IU/ml
16	N	N	N	3,32x10e3	N	0,83x10e1	IU/ml
17	N	5,00x10e2	N	1,00x10e5	N	1,00x10e4	cp/ml
18	N	3,40x10e2	N	5,50x10e4	N	3,00x10e3	cp/ml
20	N	N	N	4,85x10e4	N	2,48x10e3	cp/ml
21	N	1,03x10e2	N	2,61x10e4	N	2,44x10e3	IU/ml
22	N	8,40x10e1	N	1,60x10e4	N	1,29x10e3	IU/ml
23	N	N	N	P	N	P	
24	N	N	N	6,55x10e3	N	1,05x10e3	IU/ml
25	N	8,60x10e1	N	7,00x10e3	N	8,10x10e2	IU/ml
26*	N	N	N	2,56x10e3	N	1,38x10e2	IU/ml
				1,79x10e4		9,63x10e2	cp/ml
27	N	N	N	6,99x10e4	N	5,49x10e3	IU/ml
28	N	5,00x10e2	N	1,00x10e5	N	1,00x10e4	cp/ml
29	N	<2,50x10e2	N	1,65x10e4	N	1,50x10e3	IU/ml
30	N	6,70x10e1	N	4,36x10e4	N	3,69x10e3	IU/ml
31	N	3,50x10e1	N	6,30x10e3	N	5,70x10e2	IU/ml

\* Laboratoř 26 jako jediná uvedla výsledky v IU/ml i v cp/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly.

Pořadová čísla laboratoř v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).

Tabulka 3: KVANTITATIVNÍ VÝSLEDKY HCV-RNA (EHK – 788)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	N	++	N	N	+++	
1-NRL	1,16x10e2	N	8,96x10e2	N	N	6,77x10e3	IU/ml
2	P	N	P	N	N	P	
4	<1,00x10e2	N	8,64x10e3	N	N	1,04x10e5	IU/ml
5	P	N	P	N	N	P	
6	1,80x10e2	N	7,62x10e2	N	N	6,61x10e3	IU/ml
7	9,93x10e1	N	6,90x10e2	N	N	5,09x10e3	IU/ml
8	1,50x10e2	N	5,60x10e2	N	N	3,80x10e3	IU/ml
9	7,57x10e1	N	3,74x10e2	N	N	6,48x10e3	IU/ml
10	0,50x10e1	N	4,76x10e2	N	N	7,02x10e3	IU/ml
11	N	N	P	N	N	P	
12	<2,50x10e1	N	2,46x10e2	N	N	3,00x10e3	IU/ml
13	1,16x10e2	N	6,97x10e2	N	N	5,21x10e3	IU/ml
14	N	N	P	N	N	P	
15	3,16x10e1	N	4,96x10e2	N	N	5,59x10e3	IU/ml
16	P (<limit)	N	1,74x10e2	N	N	8,32x10e2	IU/ml
17	N	N	2,50x10e3	N	N	1,00x10e4	cp/ml
18	1,50x10e2	N	1,10x10e3	N	N	8,20x10e3	IU/ml
19	5,50x10e1	N	6,55x10e2	N	N	5,13x10e3	IU/ml
21	2,69x10e1	N	3,08x10e2	N	N	2,58x10e3	IU/ml
22	1,60x10e1	N	2,39x10e2	N	N	3,51x10e3	IU/ml
23	N	N	P	N	N	P	
24	4,09x10e1	N	1,84x10e2	N	N	2,20x10e3	IU/ml
25	9,50x10e1	N	4,20x10e2	N	N	3,80x10e3	IU/ml
26	8,48x10e2	2,88x10e2	1,57x10e3	N	2,25x10e2	5,26x10e2	IU/ml
27	N	N	<2,50x10e2	N	N	4,59x10e4	IU/ml
28	N	N	2,50x10e3	N	N	1,00x10e4	cp/ml
29	N	N	4,29x10e2	N	N	2,57x10e3	IU/ml
30	2,65x10e2	N	5,50x10e2	N	N	5,67x10e3	IU/ml
31	6,00x10e1	N	5,30x10e2	N	N	7,60x10e3	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly.

Pořadová čísla laboratoří v této tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL pro VH uvedena pod číslem 1).