

EHK – 832 a 833 Stanovení HBV DNA a HCV RNA

Pavel Fritz

CHARAKTERISTIKA SÉRIÍ EHK 832–833 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK–832 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK–833 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 33 laboratoří, z nichž 3 testovaly pouze HCV-RNA a zbývajících 30 oba markery.

Každou ze sérií tvořilo 6 vzorků, z nichž 3 byly pozitivní a 3 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích (vzorek č. 2 v sérii EHK–832 a vzorek č. 6 v sérii EHK–833) 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 1. do 11. 4. 2014, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 2. 5. 2014.

KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK–832 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH zhruba $1,2 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 2), $2,5 \times 10^3$ (vzorek 1) a $2,9 \times 10^4$ (vzorek 5). V sérii EHK–833 činily naměřené koncentrace HCV-RNA zhruba $1,5 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 6), $1,4 \times 10^3$ (vzorek 2) a $1,3 \times 10^4$ (vzorek 4).

V sérii EHK–833 došlo k situaci, která nebyla v minulosti zanedbávána. Dva ze tří vzorků pozitivních na HCV-RNA (vzorky 2 a 6) vykázaly při testech stability (necelý měsíc po rozplnění a distribuci) pokles naměřené koncentrace cílového markeru. Hodnoty uvedené v této zprávě jako výsledky NRL-VH pocházejí z prvního testování (tj. před poklesem). Z tabulky 3 vyplývá, že většina účastníků zřejmě testovala materiál krátce po převzetí, neboť pokles se v praxi téměř neprojevil. Průměrná hodnota u nejslabšího vzorku 6, naměřená těmi laboratořemi, které měly výsledky pozitivní a současně kvantifikovaly v jednotkách IU/ml,

činila 150 IU/ml (tedy přesně tolik, kolik naměřila NRL-VH při prvním testování). Do výpočtu nebyly zahrnuty laboratoře, které měly výsledky negativní, dále ty, které nevedly typ jednotek nebo kvantifikovaly v cp/ml, a rovněž laboratoř s pořadovým číslem 3, jejíž mimořádně vysoká hodnota byla zřejmě důsledkem nepřesnosti metody.

VÝSLEDKY LABORATOŘÍ

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).

U bodovaných vzorků chybovaly pouze 2 laboratoře ze 33 zúčastněných. Laboratoř 4 vykázala jednu chybu při testování HBV-DNA (falešně pozitivní vzorek 6), laboratoř 13 dvě chyby při testování HCV-RNA (falešně pozitivní vzorek 1, falešně negativní vzorek 2). V obou případech připadají do úvahy jak laboratorní chyby, tak záměny vzorků při testování či při zápisu hodnot do výsledkových formulářů.

U nebodovaných vzorků (nejslabší pozitivní v každé sérii) nezachytily přítomnost HBV-DNA 2 laboratoře a HCV-RNA 7 laboratoří. Pro srovnání v roce 2013 to bylo 8 laboratoří u HBV-DNA a 7 laboratoří u HCV-RNA (oba markery tehdy shodně testovalo 28 účastníků). Bylo tedy zaznamenáno výrazné zlepšení u HBV-DNA a shodný počet u HCV-RNA.

Kvantitativní vyjádření pozitivních výsledků nebylo povinné a netvořilo součást bodového hodnocení. Oproti jiným rokům se prakticky nevyskytovala extrémní vybočení z průměru. Laboratoř 3 podhodnotila HBV-DNA u vzorku 5 a naopak nadhodnotila HCV-RNA u vzorku 6. Laboratoř 4 nadhodnotila HCV-RNA u vzorků 2 a 4 (pokud kvantifikovala v IU/ml – neuvedeno). Celkem kvantifikovalo své výsledky 26 ze 33 účastníků (79%).

Mgr. Pavel Fritz
NRL pro virové hepatitidy
SZÚ-CEM

Tabulka 1: SOUHRNNÉ VÝSLEDKY EHK – 832 a 833 (P = pozitivní, N = negativní)

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	P	P	N	N	P	N	N	P	N	P	N	P
2	P	P	N	N	P	N	N	P	N	P	N	P
3	P	N	N	N	P	N	N	P	N	P	N	P
4	P	N	N	N	P	P	N	P	N	P	N	P
5	P	P	N	N	P	N	N	P	N	P	N	P
6	P	P	N	N	P	N	N	P	N	P	N	P

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

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 – 832)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	++	+	N	N	+++	N	
1-NRL	2,50x10e3	1,18x10e2	N	N	2,87x10e4	N	IU/ml
2	P	P	N	N	P	N	
3	9,10x10e2	N	N	N	8,70x10e2	N	IU/ml
4	3,81x10e3	N	N	N	2,56x10e4	4,68x10e2	IU/ml
5	P	P	N	N	P	N	
6	2,53x10e3	9,30x10e1	N	N	2,65x10e4	N	IU/ml
7	-	-	-	-	-	-	
8	2,16x10e3	8,25x10e1	N	N	2,51x10e4	N	?
9	3,80x10e2	<5,00x10e1	N	N	2,90x10e3	N	IU/ml

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	++	+	N	N	+++	N	
10	P	P	N	N	P	N	
11	-	-	-	-	-	-	
12	3,30x10e2	1,50x10e1	N	N	3,01x10e3	N	IU/ml
13	7,89x10e3	<1,00x10e2	N	N	6,27x10e4	N	cp/ml
14	1,77x10e3	6,41x10e1	N	N	1,71x10e4	N	IU/ml
15	2,26x10e2	0,99x10e1	N	N	2,55x10e3	N	IU/ml
16	P	P	N	N	P	N	
17	2,27x10e3	1,36x10e2	N	N	2,15x10e4	N	IU/ml
18	7,60x10e2	2,36x10e1	N	N	5,88x10e3	N	IU/ml
19	6,00x10e3	3,00x10e2	N	N	6,00x10e4	N	cp/ml
20	8,22x10e3	6,89x10e2	N	N	9,23x10e4	N	cp/ml
21	3,20x10e2	7,00x10e1	N	N	2,40x10e4	N	IU/ml
22	-	-	-	-	-	-	
23	7,10x10e2	3,77x10e1	N	N	6,66x10e3	N	IU/ml
24	P	P	N	N	P	N	
25	2,39x10e3	1,50x10e2	N	N	2,05x10e4	N	IU/ml
26	1,95x10e2	1,20x10e1	N	N	3,33x10e3	N	IU/ml
27	P	P	N	N	P	N	
28	4,90x10e2	2,60x10e2	N	N	4,20x10e3	N	IU/ml
29	1,31x10e3	3,50x10e1	N	N	9,47x10e3	N	IU/ml
	4,58x10e3	1,23x10e2	N	N	3,32x10e4	N	cp/ml
30	2,00x10e3	1,90x10e2	N	N	3,00x10e4	N	IU/ml
31	6,10x10e3	2,50x10e2	N	N	4,00x10e4	N	cp/ml
32	8,28x10e2	6,00x10e1	N	N	6,74x10e3	N	IU/ml
33	1,60x10e3	1,80x10e2	N	N	9,00x10e3	N	IU/ml
34	7,00x10e2	<5,00x10e1	N	N	3,70x10e3	N	IU/ml

Laboratoř 29 jako jediná uvedla výsledky v IU/ml i v cp/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).

Tabulka 3: KVANTITATIVNÍ VÝSLEDKY HCV-RNA (EHK – 833)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++	N	+++	N	+	
1-NRL	N	1,41x10e3	N	1,26x10e4		1,53x10e2	IU/ml
2	N	P	N	P	N	P	
3	N	3,95x10e3	N	2,53x10e4	N	2,18x10e3	IU/ml
4	N	1,23x10e4	N	1,88x10e5	N	<1,00x10e2	?
5	N	P	N	P	N	P	
6	N	8,03x10e2	N	1,61x10e4	N	8,50x10e1	IU/ml
7	N	P	N	P	N	N	
8	N	4,07x10e2	N	1,38x10e4	N	1,07x10e2	?
9	N	1,50x10e3	N	1,30x10e4	N	1,70x10e2	IU/ml
10	N	P	N	P	N	P	
11	N	9,14x10e2	N	1,84x10e4	N	9,46x10e1	IU/ml
12	N	5,40x10e2	N	7,09x10e3	N	1,50x10e1	IU/ml

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++	N	+++	N	+	
13	7,57x10e2	N	N	4,58x10e3	N	4,55x10e2	IU/ml
14	N	6,47x10e2	N	1,48x10e4	N	1,11x10e2	IU/ml
15	N	9,03x10e2	N	8,74x10e3	N	1,49x10e2	IU/ml
16	N	P	N	P	N	N	
17	N	8,30x10e2	N	1,48x10e4	N	7,42x10e1	IU/ml
18	N	5,60x10e2	N	9,95x10e3	N	1,95x10e2	IU/ml
19	N	2,00x10e3	N	5,50x10e4	N	N	cp/ml
20	N	2,25x10e3	N	2,75x10e4	N	4,51x10e2	IU/ml
21	N	2,45x10e2	N	4,75x10e3	N	5,00x10e1	IU/ml
22	N	9,15x10e2	N	1,15x10e4	N	1,04x10e2	IU/ml
23	N	5,84x10e2	N	9,47x10e3	N	9,55x10e1	IU/ml
24	N	P	N	P	N	N	
25	N	1,00x10e3	N	6,56x10e4	N	7,10x10e1	IU/ml
26	N	1,22x10e2	N	8,10x10e3	N	6,60x10e1	IU/ml
27	N	P	N	P	N	P	
28	N	4,90x10e2	N	1,90x10e4	N	7,30x10e1	IU/ml
29	N	1,35x10e2	N	8,75x10e3	N	N	IU/ml
30	N	5,35x10e2	N	1,00x10e4	N	2,40x10e2	IU/ml
31	N	5,50x10e3	N	4,50x10e4	N	N	cp/ml
32	N	3,76x10e2	N	1,50x10e4	N	N	IU/ml
33	N	1,20x10e3	N	1,50x10e4	N	2,50x10e2	IU/ml
34	N	1,50x10e3	N	2,10x10e4	N	1,00x10e2	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).