

EHK – 922 a 923 Stanovení nukleových kyselin virových hepatitid B a C (HBV DNA a HCV RNA)

Pavel Fritz

CHARAKTERISTIKA SÉRIÍ EHK 922 A 923 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK - 922 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK - 923 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 33 laboratoří, z nichž 3 testovaly pouze HCV-RNA, 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. 1 v sérii EHK-922 a vzorek č. 6 v sérii EHK-923) sloužily účastníkům k ověření citlivosti používaných metod a nebyly součástí bodového hodnocení. U zbývajících vzorků znamenal každý neshodný výsledek pro účastníka hodnocení „laboratoř neuspěla“ (netýká se odchylek v kvantifikaci).

Vzorky byly distribuovány v Národní referenční laboratoři pro virové hepatitidy (NRL/VH) od 29. 3. do 8. 4. 2016, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 29. 4. 2016.

KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK-922 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL/VH $1,7 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 1), $3,3 \times 10^3$ (vzorek 2) a $7,1 \times 10^4$ (vzorek 5). V sérii EHK-923 činily naměřené koncentrace HCV-RNA $2,1 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 6), $3,4 \times 10^3$ (vzorek 2) a $2,0 \times 10^4$ (vzorek 3).

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, případné nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře. Celkem kvantifikovalo své výsledky 24 laboratoří u markeru HBV-DNA (80%) a 28 u markeru HCV-RNA (85%). Většina účastníků kvantifikovala své výsledky v IU/ml, menší část v cop/ml (hodnoty v cop/ml vycházely zhruba o půl řádu až o řád vyšší než v IU/ml).

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). Výrazným trendem (zejména u HCV-RNA) je rostoucí počet laboratoří, které vyšetřují vzorky více než jednou metodou a poskytují dvě až tři nezávislé sady výsledků. V tabulkách 1-3 má každá z použitých metod vlastní řádek.

Nejslabší (nebodované) pozitivní vzorky v obou sériích měly koncentraci cílových markerů nastavenou shodně okolo 200 IU/ml. Zatímco u HBV-DNA zachytily nejslabší vzorek všechny laboratoře, v případě HCV-RNA vykázalo 5 pracovišť negativní výsledky. Do tohoto počtu nejsou zahrnuty laboratoře č. 17 a 31, které testovaly HCV-RNA více metodami, přičemž nejslabší pozitivní vzorek zachytily pouze jedním z testů (viz tab. 1 a 3). Pro úplnost dodáváme, že koncentrace HCV-RNA v nejslabším pozitivním vzorku (vzorek č. 6) nevykazovala v čase pokles (ověřeno testem stability dne 18. 5.). Účastníci, kteří jej nezachytily, by si měli být vědomi, že jejich metody mají sníženou citlivost.

U zbylých pěti (bodovaných) vzorků v každé sérii nechybovalo žádné z pracovišť. Velké výkyvy nebyly zaznamenány ani při kvantifikaci pozitivních výsledků, ačkoli se některé laboratoře mírně vzdálily od průměrných hodnot. Nejvýrazněji laboratoř č. 24, která nadhodnotila koncentraci HCV-RNA u nejslabšího pozitivního vzorku č. 6 (pracoviště vykázalo u tohoto vzorku hodnotu o půl řádu silnější než u středně pozitivního vzorku č. 2 - viz tab. 3).

Celkově lze série EHK922 a 923 považovat za velmi úspěšné. Zatímco výsledky testování obou nejslabších pozitivních vzorků věrně kopírovaly výsledky z loňského roku, nula chyb u bodovaných vzorků je opravdu potěšující (a to včetně odpovídající kvantifikace u téměř všech laboratoří, které ji prováděly). Účastníky můžeme za jejich dobrou práci pochválit.

Tabulka 1: SOUHRNNÉ VÝSLEDKY V SÉRIÍCH EHK 922 a 923 (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	P	N	N	P
2	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
3	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
4	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	N
5	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
6	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
7	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
8	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
9	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
10	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	P
11	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
12	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
13	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
14	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
15	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	N
16	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
17	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	N
	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	N
18	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	N
19	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
20	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	P
21	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
22	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	P
23	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	P
24	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
25	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	N
26	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
27	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
28	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
29	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	N
30	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	P
31	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
	-	-	-	-	-	-	N	P	P	N	N	N
32	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
33	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	N	P
34	P	P	N	N	P	N	N	P	P	N	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. Více sad výsledků u jediné laboratoře znamená testování různými metodami. 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 V SÉRII EHK 922 (P = pozitivní, N = negativní)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	++	N	N	+++	N	
1-NRL	1,68x10e2	3,25x10e3	N	N	7,05x10e4	N	IU/ml
2	P	P	N	N	P	N	
3	3,42x10e2	1,37x10e3	N	N	2,28x10e4	N	IU/ml
4	4,41x10e2	1,13x10e4	N	N	1,72x10e5	N	IU/ml
5	9,57x10e2	1,33x10e4	N	N	2,25x10e5	N	IU/ml
6	P	P	N	N	P	N	
7	1,40x10e2	2,32x10e3	N	N	6,29x10e4	N	IU/ml
8	<5,00x10e1	1,24x10e3	N	N	2,56x10e4	N	IU/ml
9	P	P	N	N	P	N	
10							
11	P	P	N	N	P	N	
12	4,92x10e1	1,61x10e3	N	N	2,88x10e4	N	IU/ml
13	P	P	N	N	P	N	
	2,40x10e2	4,35x10e3	N	N	9,01x10e4	N	IU/ml
	2,78x10e1	1,44x10e3	N	N	2,35x10e4	N	IU/ml
14	3,41x10e1	1,10x10e3	N	N	1,63x10e4	N	IU/ml
15	P	P	N	N	P	N	
16	9,70x10e1	2,31x10e3	N	N	4,61x10e4	N	IU/ml
17	2,38x10e2	2,47x10e3	N	N	4,65x10e4	N	IU/ml
18	2,42x10e3	2,86x10e4	N	N	7,22x10e5	N	cop/ml
19	9,40x10e2	1,40x10e4	N	N	2,50x10e5	N	IU/ml
20	<1,00x10e1	1,50x10e3	N	N	2,10x10e4	N	IU/ml
21	3,80x10e3	4,22x10e4	N	N	3,01x10e5	N	cop/ml
22	4,48x10e2	1,21x10e4	N	N	2,58x10e5	N	IU/ml
23							
24	9,00x10e1	1,11x10e3	N	N	2,05x10e4	N	IU/ml
25	P	P	N	N	P	N	
26	3,54x10e1	1,22x10e3	N	N	2,21x10e4	N	IU/ml
27	6,81x10e2	1,15x10e4	N	N	2,01x10e5	N	IU/ml
28	7,30x10e1	5,10x10e3	N	N	7,00x10e4	N	IU/ml
29	1,66x10e2	4,93x10e3	N	N	1,29x10e5	N	IU/ml
	5,81x10e2	1,73x10e4	N	N	4,51x10e5	N	cop/ml
30							
31	6,40x10e1	1,62x10e3	N	N	2,87x10e4	N	IU/ml
32	2,50x10e2	4,60x10e3	N	N	8,40x10e4	N	IU/ml
33	6,90x10e2	5,20x10e3	N	N	5,20x10e4	N	IU/ml
34	9,39x10e2	2,38x10e3	N	N	1,73x10e4	N	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Více sad výsledků u jediné laboratoře znamená testování různými metodami (výjimku tvoří lab. 29, která testovala HBV-DNA jednou metodou, ale výsledky uvedla v různých jednotkách). 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 V SÉRII EHK 923 (P = pozitivní, N = negativní)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++	+++	N	N	+	
1	N	3,41x10e3	2,01x10e4	N	N	2,13x10e2	IU/ml
2	N	P	P	N	N	P	
3	N	1,52x10e3	2,01x10e4	N	N	slabě P	IU/ml
4	N	3,33x10e2	6,87x10e3	N	N	N	IU/ml
5	N	5,24x10e3	8,29x10e4	N	N	8,70x10e1	IU/ml
6	N	P	P	N	N	P	
7	N	2,40x10e3	1,36x10e4	N	N	2,21x10e2	IU/ml
8	N	3,14x10e2	6,44x10e3	N	N	<5,00x10e1	IU/ml
9	N	P	P	N	N	P	
10	N	3,23x10e3	1,64x10e4	N	N	1,56x10e2	IU/ml
11	N	7,90x10e2	6,98x10e3	N	N	5,00x10e1	IU/ml
12	N	1,53x10e3	1,10x10e4	N	N	9,26x10e1	IU/ml
13	N	P	P	N	N	P	
	N	1,27x10e3	1,32x10e4	N	N	5,76x10e1	IU/ml
	N	9,64x10e2	1,31x10e4	N	N	8,28x10e1	IU/ml
14	N	1,16x10e3	7,41x10e3	N	N	6,04x10e1	IU/ml
15	N	P	P	N	N	N	
16	N	2,41x10e3	1,38x10e4	N	N	2,08x10e2	IU/ml
17	N	5,84x10e2	3,81x10e3	N	N	2,40x10e1	IU/ml
	N	1,71x10e3	6,60x10e3	N	N	N	IU/ml
	N	3,78x10e1	1,02x10e2	N	N	N	IU/ml
18	N	1,34x10e4	5,11x10e4	N	N	N	cop/ml
19	N	9,10x10e2	1,20x10e4	N	N	4,83x10e1	IU/ml
20	N	8,88x10e3	7,20x10e4	N	N	7,50x10e2	IU/ml
	N	1,72x10e3	7,29x10e4	N	N	6,30x10e1	IU/ml
21	N	1,50x10e3	1,47x10e4	N	N	1,51x10e2	IU/ml
22	N	5,25x10e2	5,32x10e3	N	N	2,50x10e1	IU/ml
	N	5,90x10e2	6,70x10e3	N	N	2,13x10e1	IU/ml
23	N	2,02x10e3	1,19x10e4	N	N	1,42x10e2	IU/ml
24	N	1,12x10e3	1,13x10e4	N	N	7,01x10e3	IU/ml
25	N	P	P	N	N	N	
26	N	1,81x10e3	1,53x10e4	N	N	1,32x10e2	IU/ml
27	N	1,53x10e3	1,02x10e4	N	N	6,30x10e1	IU/ml
28	N	5,60x10e2	9,60x10e3	N	N	<3,40x10e1	IU/ml
29	N	1,36x10e3	2,06x10e4	N	N	N	IU/ml
30	N	1,17x10e3	7,97x10e3	N	N	7,70x10e1	IU/ml
31	N	1,42x10e3	1,78x10e4	N	N	2,50x10e1	IU/ml
	N	2,70x10e3	1,54x10e4	N	N	N	IU/ml
32	N	9,10x10e2	9,70x10e3	N	N	5,20x10e1	IU/ml
33	N	2,60x10e3	2,00x10e4	N	N	3,20x10e2	IU/ml
34	N	5,92x10e2	3,06x10e3	N	N	3,73x10e2	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Více sad výsledků u jediné laboratoře znamená testování různými metodami.

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

Mgr. Pavel Fritz
NRL pro virové hepatitidy, SZÚ-CEM