

EHK – 742 a 743 Stanovení HBV DNA a HCV RNA

Pavel Fritz

Charakteristika sérií EHK – 742 a 743 a způsob hodnocení

Série EHK – 742 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK – 743 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 30 laboratoří, z nichž dvě testovaly pouze HCV-RNA a zbývajících 28 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. 3 v sérii EHK – 742 a vzorek č. 5 v sérii EHK – 743) 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 3. do 13. 4. 2012, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 3. 5. 2012.

Koncentrace cílových markerů u pozitivních vzorků

V sérii EHK – 742 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH zhruba $1,4 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 3), $3,4 \times 10^3$ (vzorek 1) a $3,2 \times 10^4$ (vzorek 6). V sérii EHK–743 činily naměřené koncentrace HCV-RNA zhruba $1,1 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 5), $2,8 \times 10^3$ (vzorek 3) a $2,3 \times 10^4$ (vzorek 2). 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.

Kvantitativní hodnoty, získané všemi účastníky, jsou shrnuty v tabulkách 2 a 3 (Národní referenční laboratoř pro virové hepatitidy figuruje v těchto tabulkách pod č. 1).

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 výsledky laboratoří

U bodovaných vzorků chybovaly 3 laboratoře ze 30 zúčastněných (celkové rozložení chyb viz tabulka 1). Laboratoř s poř. č. 11 vykázala jednu falešnou pozitivitu HBV-DNA (vzorek 2 / EHK – 742), laboratoř č. 13 jednu falešnou pozitivitu HCV-RNA (vzorek 6 / EHK – 743) a laboratoř č. 20 jednu falešnou negativitu HCV-RNA (vzorek 3 / EHK – 743). Poslední jmenovaná laboratoř uvedla, že plánuje změnu metodiky.

U nebodovaných vzorků (nejslabší pozitivní vzorek v obou sériích) prokázalo nižší citlivost svých metod celkem 9 laboratoří, z toho 2 u HBV-DNA, 4 u HCV-RNA a 3 u obou markerů. Kromě toho u HCV-RNA ohlásila jedna laboratoř „inhibiči“ nejslabšího pozitivního vzorku. Znamená to, že určité rezervy v citlivosti vykazuje zhruba třetina účastníků, tedy poměrně vysoké číslo.

Kvantitativní vyjádření pozitivních výsledků nebylo povinné a netvořilo součást bodového hodnocení (podrobně viz tab. 2 a 3). Zmínit lze laboratoře č. 3 a 26, které kvantitativní výstup výrazně podhodnocovaly u obou markerů, laboratoř č. 22 pak v menším rozsahu pouze u HCV-RNA. Celkem kvantifikovalo své výsledky 24 ze 30 účastníků (80 %).

Na závěr lze shrnout, že oproti roku 2011 (série EHK – 698 a 699) se počet chybujících překvapivě zvýšil. U bodovaných vzorků z 1 (4 % z 25 zúčastněných) na 3 (10 % z 30 zúčastněných). U nebodovaných vzorků ze 3 (12 % z 25 zúčastněných) na 9 (30 % z 30 zúčastněných). Významnou roli nepochybně sehrála nižší koncentrace cílových markerů u nebodovaných vzorků (z hodnoty mírně přes 200 IU/ml na hodnotu mírně přes 100 IU/ml), nicméně celkové výsledky přesto nelze označit za jednoznačně uspokojivé.

Tabulka 1: SOUHRNNÉ VÝSLEDKY EHK – 742 a 743

| Pořad. číslo | 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 | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 2 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 3 | P | N | N | N | N | P | N | P | P | N | N | N |
| 4 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | N | N |

| | | | | | | | | | | | | |
|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|------|---|
| 5 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 6 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 7 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 8 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | inh. | N |
| 9 | - | - | - | - | - | - | N | P | P | N | P | N |
| 10 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 11 | P | P | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 12 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 13 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | P |
| 14 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | N | N |
| 15 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 16 | P | N | N | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 17 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 18 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 19 | - | - | - | - | - | - | N | P | P | N | P | N |
| 20 | P | N | N | N | N | P | N | P | N | N | N | N |
| 21 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 22 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 23 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 24 | P | N | N | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 25 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 26 | P | N | N | N | N | P | N | P | P | N | N | N |
| 27 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | N | N |
| 28 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 29 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | N | N |
| 30 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |
| 31 | P | N | P | N | N | P | N | P | P | N | P | N |

(P = pozitivní, N = negativní, inh. = inhibice)

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 – 742)

| Pořad. číslo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | jednotky |
|--------------|-----------|---|------------|---|---|-----------|----------|
| | ++ | N | + | N | N | +++ | |
| 1-NRL | 3,43x10e3 | N | 1,38x10e2 | N | N | 3,17x10e4 | IU/ml |
| 2 | P | N | P | N | N | P | |
| 3 | 4,75x10e1 | N | N | N | N | 1,29x10e3 | IU/ml |
| 4 | 3,49x10e3 | N | 8,84x10e2 | N | N | 3,54x10e4 | IU/ml |
| 5 | P | N | P | N | N | P | |
| 6 | 3,29x10e3 | N | 1,09x10e2 | N | N | 3,17x10e4 | IU/ml |
| 7 | 2,53x10e3 | N | 1,42x10e2 | N | N | 3,56x10e4 | IU/ml |
| 8 | 8,40x10e2 | N | <1,00x10e2 | N | N | 2,7x10e3 | IU/ml |
| 10 | 5,25x10e2 | N | 1,50x10e1 | N | N | 4,87x10e3 | IU/ml |
| 11 | P | P | P | N | N | P | |
| 12 | 2,84x10e3 | N | 9,43x10e1 | N | N | 2,77x10e4 | IU/ml |

| | | | | | | | |
|----|-----------|---|------------|---|---|-----------|--------|
| 13 | 2,58x10e2 | N | 0,70x10e1 | N | N | 3,38x10e3 | IU/ml |
| 14 | P | N | P | N | N | P | |
| 15 | 2,66x10e3 | N | 1,24x10e2 | N | N | 2,83x10e4 | IU/ml |
| 16 | 2,42x10e2 | N | N | N | N | 4,78x10e2 | IU/ml |
| 17 | 6,00x10e2 | N | 2,00x10e1 | N | N | 5,20x10e3 | cp/ml |
| 18 | 3,60x10e3 | N | 3,40x10e2 | N | N | 2,40x10e4 | cp/ml |
| 20 | 8,57x10e3 | N | N | N | N | 2,06x10e4 | cp/ml |
| 21 | 3,27x10e3 | N | 1,44x10e2 | N | N | 2,52x10e4 | IU/ml |
| 22 | 1,94x10e3 | N | 1,22x10e2 | N | N | 2,52x10e4 | IU/ml |
| 23 | P | N | P | N | N | P | |
| 24 | 2,70x10e2 | N | N | N | N | 2,10x10e3 | neued. |
| 25 | 8,30x10e2 | N | 4,00x10e1 | N | N | 6,10x10e3 | IU/ml |
| 26 | 6,00x10e1 | N | N | N | N | 8,45x10e2 | IU/ml |
| 27 | 7,00x10e3 | N | <1,00x10e2 | N | N | 6,00x10e5 | cp/ml |
| 28 | P | N | P | N | N | P | |
| 29 | 7,50x10e2 | N | <2,50x10e2 | N | N | 5,50x10e3 | IU/ml |
| 30 | 4,60x10e2 | N | 4,20x10e1 | N | N | 7,80x10e3 | IU/ml |
| 31 | 3,90x10e2 | N | <1,00x10e2 | N | N | 4,30x10e3 | 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).

Tabulka 3: KVANTITATIVNÍ VÝSLEDKY HCV-RNA (EHK – 743)

| Pořad. číslo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | jednotky |
|--------------|---|-----------|-----------|---|------------|------------|----------|
| | N | +++ | ++ | N | + | N | |
| 1-NRL | N | 2,27x10e4 | 2,76x10e3 | N | 1,14x10e2 | N | IU/ml |
| 2 | N | P | P | N | P | N | |
| 3 | N | 5,87x10e1 | 6,68x10e1 | N | N | N | IU/ml |
| 4 | N | 3,19x10e5 | 3,20x10e4 | N | N | N | IU/ml |
| 5 | N | P | P | N | P | N | |
| 6 | N | 3,22x10e4 | 4,74x10e3 | N | 3,53x10e2 | N | IU/ml |
| 7 | N | 1,23x10e4 | 2,01x10e3 | N | 6,20x10e1 | N | IU/ml |
| 8 | N | 1,00x10e4 | 1,10x10e3 | N | inhibice | N | IU/ml |
| 9 | N | 2,30x10e4 | 2,50x10e3 | N | 2,00x10e2 | N | IU/ml |
| 10 | N | 1,80x10e4 | 2,40x10e3 | N | 1,50x10e2 | N | IU/ml |
| 11 | N | P | P | N | P | N | |
| 12 | N | 1,76x10e4 | 2,02x10e3 | N | 1,38x10e2 | N | IU/ml |
| 13 | N | 1,16x10e4 | 1,64x10e3 | N | 1,02x10e2 | <2,50x10e1 | IU/ml |
| 14 | N | P | P | N | N | N | |
| 15 | N | 2,16x10e4 | 2,21x10e3 | N | 1,36x10e2 | N | IU/ml |
| 16 | N | 2,45x10e5 | 1,77x10e4 | N | <2,50x10e2 | N | IU/ml |
| 17 | N | 1,00x10e4 | 1,00x10e3 | N | 2,00x10e2 | N | IU/ml |
| 18 | N | 3,21x10e4 | 5,01x10e3 | N | 3,57x10e2 | N | IU/ml |
| 19 | N | 2,37x10e4 | 3,21x10e3 | N | 1,90x10e2 | N | IU/ml |
| 20 | N | 1,13x10e5 | N | N | N | N | cp/ml |
| 21 | N | 2,24x10e4 | 2,84x10e3 | N | 1,67x10e2 | N | IU/ml |
| 22 | N | 8,76x10e3 | 5,40x10e2 | N | 2,32x10e1 | N | IU/ml |
| 23 | N | P | P | N | P | N | |

| | | | | | | | |
|----|---|----------------------|----------------------|---|----------------------|---|-------|
| 24 | N | 3,36x10 ⁴ | 3,55x10 ³ | N | 1,98x10 ² | N | IU/ml |
| 25 | N | 2,00x10 ⁴ | 3,70x10 ³ | N | 2,30x10 ² | N | IU/ml |
| 26 | N | 5,26x10 ³ | 8,57x10 ² | N | N | N | IU/ml |
| 27 | N | 4,10x10 ⁵ | 3,10x10 ⁴ | N | N | N | IU/ml |
| 28 | N | P | P | N | P | N | |
| 29 | N | 1,63x10 ⁴ | 3,86x10 ³ | N | N | N | IU/ml |
| 30 | N | 1,26x10 ⁴ | 1,50x10 ³ | N | 1,30x10 ² | N | IU/ml |
| 31 | N | 1,30x10 ⁴ | 2,10x10 ³ | N | 1,20x10 ² | N | 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).

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