

EHK – 877 a 878 Stanovení HBV DNA a HCV RNA

Pavel Fritz

CHARAKTERISTIKA SÉRIÍ EHK 877 A 878 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK–877 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK–878 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 31 laboratoří, z nichž 2 testovaly pouze HCV-RNA, zbývajících 29 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. 4 v sérii EHK 877 a vzorek č. 1 v sérii EHK 878) 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 30. 3. do 10. 4. 2015, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 30. 4. 2015.

KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK 877 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH $1,3 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 4), $2,9 \times 10^3$ (vzorek 2) a $7,5 \times 10^4$ (vzorek 6). V sérii EHK–878 činily naměřené koncentrace HCV-RNA $1,6 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 1), $2,3 \times 10^3$ (vzorek 2) a $2,2 \times 10^4$ (vzorek 5).

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, případné nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře. Celkem kvantifikovalo své výsledky 23 laboratoří u markeru HBV-DNA (79 %) a 26 u markeru HCV-RNA (84 %). Většina účastníků kvantifikovala své výsledky v IU/ml, menší část v cp/ml (hodnoty v cp/ml vycházely zhruba o jeden 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).

Potěšujícím ukazatelem je průběžně klesající počet laboratoří, kterým se nedaří zachytit nejslabší pozitivní vzorek u jednoho či druhého markeru. Koncentrace cílových markerů v obou nebodovaných vzorcích je nastavována mezi 100 a 200 IU/ml, přičemž úspěšnost u HBV-DNA byla letos 100%! Oproti tomu v případě HCV-RNA došlo pouze k mírnému zlepšení (5x nezachyceno).

U bodovaných vzorků vykazovalo problémy různého typu celkem 5 pracovišť, což nevybočuje z dlouhodobého trendu. Nejméně závažné nedostatky zaznamenala laboratoř s poř. č. 30, jejíž metoda výrazně podhodnocuje kvantifikaci HCV-RNA (nezachycen rovněž nejslabší pozitivní vzorek). Další laboratoř č. 9 požívá u obou markerů metody sice citlivé, ale s kvantifikací zcela nefunkční. Toto pracoviště kvantifikovalo všech 6 pozitivních vzorků v rozsahu 20–40 IU/ml či cp/ml (jednotky neuvedeny), přestože skutečná koncentrace byla až o tři řády vyšší. Podivně chyběla u markeru HCV-RNA laboratoř č. 25, která vedle nepřesné kvantifikace vykazovala falešnou negativitu u vzorku 2 a falešnou pozitivitu u vzorku 6. Pokud by se však výsledky zapsaly do protokolu v jiném pořadí, byly by bezchybné (včetně kvantifikace). O záměnu při polepování zkumavek v SZÚ se jednat nemůže, neboť vzorky nebyly (na rozdíl od jiných sérií) kódovány individuálně. Další chybující laboratoř s poř. č. 28 vykazovala falešnou pozitivitu HBV-DNA u vzorku 5. Zásadní problém s testováním HCV-RNA má poslední chybující pracoviště č. 20, které vykazovalo hned dvě falešné positivity (u vzorků 3 a 6), navíc s udanými koncentracemi okolo 1000 IU/ml. V této souvislosti lze zmínit, že všechny 3 negativní vzorky obsahovaly stejnou plazmu. Zjištěná frekvence i charakter chyb u negativních vzorků (2 ze 3, vysoké hodnoty) činí metodu nepoužitelnou v běžné praxi.

Tabulka 1: SOUHRNNÉ VÝSLEDKY EHK 877 a 878 (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	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
2	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
3	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
4	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
5	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
6	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
7	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
8	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
9	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
10	-	-	-	-	-	-	P	P	N	N	P	N
11	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
12	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
13	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
14	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
15	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
16	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
17	N	P	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N
18	N	P	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N
19	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
20	N	P	N	P	N	P	P	P	P	N	P	P
21	-	-	-	-	-	-	P	P	N	N	P	N
22	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
23	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
24	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
25	N	P	N	P	N	P	P	N	N	N	P	P
26	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
27	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
28	N	P	N	P	P	P	N	P	N	N	P	N
29	N	P	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N
30	N	P	N	P	N	P	N	P	N	N	P	N
31	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N
32	N	P	N	P	N	P	P	P	N	N	P	N

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 877)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++	N	+	N	+++	
1-NRL	N	2,90x10e3	N	1,32x10e2	N	7,52x10e4	IU/ml
2	N	P	N	P	N	P	
3	N	2,18x10e3	N	2,86x10e2	N	2,01x10e4	IU/ml
4	N	8,61x10e3	N	6,97x10e2	N	9,29x10e4	IU/ml

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	N	++	N	+	N	+++	
5	N	P	N	P	N	P	
6	N	3,73x10e3	N	1,61x10e2	N	7,16x10e4	IU/ml
7	N	2,74x10e3	N	1,41x10e2	N	6,66x10e4	IU/ml
8	N	5,00x10e3	N	4,40x10e2	N	1,20x10e5	IU/ml
9	N	2,44x10e1	N	2,91x10e1	N	2,02x10e1	??
11	N	P	N	P	N	P	
12	N	2,21x10e3	N	8,04x10e1	N	3,60x10e4	IU/ml
13	N	1,07x10e3	N	5,12x10e1	N	2,33x10e4	IU/ml
	N	4,03x10e3	N	3,01x10e2	N	1,50x10e5	IU/ml
14	N	4,51x10e3	N	1,31x10e2	N	8,65x10e4	IU/ml
15	N	P	N	P	N	P	
16	N	2,17x10e3	N	1,30x10e2	N	5,00x10e4	IU/ml
17	N	1,98x10e3	N	1,84x10e1	N	4,73x10e4	IU/ml
18	N	3,24x10e4	N	1,50x10e3	N	5,28x10e5	cp/ml
19	N	2,66x10e4	N	3,43x10e3	N	4,25x10e5	cp/ml
20	N	1,88x10e3	N	6,40x10e2	N	8,18x10e4	IU/ml
22	N	2,36x10e3	N	5,80x10e1	N	3,61x10e4	IU/ml
23	N	P	N	P	N	P	
24	N	7,85x10e2	N	2,99x10e1	N	1,15x10e4	IU/ml
25	N	9,48x10e3	N	7,18x10e2	N	1,74x10e5	IU/ml
26	N	P	N	P	N	P	
27	N	7,10x10e3	N	3,50x10e2	N	1,90x10e5	IU/ml
28	N	1,37x10e4	N	4,50x10e1	3,30x10e1	2,54x10e5	IU/ml
	N	4,80x10e4	N	1,58x10e2	1,13x10e2	8,88x10e5	cp/ml
29	N	3,20x10e4	N	1,20x10e3	N	2,70x10e5	IU/ml
30	N	7,32x10e3	N	5,90x10e2	N	1,15x10e5	IU/ml
31	N	1,10x10e4	N	5,10x10e2	N	1,50x10e5	IU/ml
32	N	6,80x10e3	N	3,20x10e2	N	9,90x10e4	IU/ml

Laboratoř 13 použila testy dvou různých výrobců; laboratoř 28 kvantifikovala 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 878)

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	++	N	N	+++	N	
1-NRL	1,61x10e2	2,27x10e3	N	N	2,16x10e4	N	IU/ml
2	P	P	N	N	P	N	
3	3,26x10e2	3,79x10e3	N	N	2,99x10e4	N	IU/ml
4	1,34x10e2	3,32x10e3	N	N	1,99x10e4	N	IU/ml
5	P	P	N	N	P	N	
6	1,06x10e2	2,21x10e3	N	N	1,90x10e4	N	IU/ml
7	1,27x10e2	1,82x10e3	N	N	1,71x10e4	N	IU/ml
8	5,90x10e1	7,30x10e2	N	N	5,50x10e3	N	IU/ml
9	3,46x10e1	2,93x10e1	N	N	2,58x10e1	N	??
10	2,47x10e2	2,29x10e3	N	N	1,66x10e4	N	IU/ml

Pořad. číslo	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	++	N	N	+++	N	
11	3,00x10e2	2,25x10e3	N	N	2,04x10e4	N	IU/ml
12	1,73x10e2	1,32x10e3	N	N	1,65x10e4	N	IU/ml
13	3,16x10e2	4,50x10e3	N	N	4,45x10e4	N	IU/ml
	1,33x10e2	2,45x10e3	N	N	3,37x10e4	N	IU/ml
14	8,81x10e1	1,37x10e3	N	N	1,37x10e4	N	IU/ml
15	P	P	N	N	P	N	
16	1,36x10e2	2,91x10e3	N	N	1,84x10e4	N	IU/ml
17	N	1,33x10e3	N	N	1,65x10e4	N	IU/ml
18	N	3,65x10e4	N	N	2,85x10e5	N	cp/ml
19	9,50x10e1	2,96x10e3	N	N	1,12x10e4	N	IU/ml
20	3,21x10e2	7,88x10e3	9,62x10e2	N	1,81x10e4	1,94x10e3	IU/ml
21	1,02x10e2	1,69x10e3	N	N	1,71x10e4	N	IU/ml
22	8,49x10e1	2,82x10e3	N	N	1,97x10e4	N	IU/ml
23	P	P	N	N	P	N	
24	9,00x10e1	1,88x10e3	N	N	1,60x10e4	N	IU/ml
25	1,83x10e4	N	N	N	3,44x10e2	2,37x10e3	IU/ml
26	P	P	N	N	P	N	
27	3,10x10e2	2,80x10e3	N	N	2,30x10e4	N	IU/ml
28	N	2,56x10e2	N	N	1,00x10e4	N	IU/ml
29	N	1,60x10e3	N	N	1,50x10e4	N	IU/ml
30	N	7,10x10e1	N	N	4,03x10e2	N	IU/ml
31	1,40x10e1	3,80x10e2	N	N	5,20x10e3	N	IU/ml
32	1,60x10e2	1,20x10e3	N	N	1,30x10e4	N	IU/ml

Laboratoř 13 použila testy dvou různých výrobců.

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*