

EHK – 1068 a 1069 Stanovení HBV DNA a HCV RNA

Pavel Fritz

CHARAKTERISTIKA SÉRIÍ EHK–1068 A 1069 A ZPŮSOB HODNOCENÍ

Série EHK–1068 byla určena pro stanovení přítomnosti DNA viru hepatitidy B, série EHK–1069 pro stanovení RNA viru hepatitidy C. Obou sérií se zúčastnilo celkem 37 laboratoří, z nichž 6 testovalo pouze HCV-RNA, zbývajících 31 oba markery.

Každou ze sérií tvořilo 6 vzorků, z nichž 4 byly pozitivní a 2 negativní. Objem vzorků činil cca 1,5 ml lidského séra nebo plazmy.

Nejslabší pozitivní vzorky v obou sériích (vzorek č. 2 v sérii EHK–1068 a vzorek č. 4 v sérii EHK–1069) 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 25. 3. do 5. 4. 2019, konečným termínem pro odevzdání výsledků byl 30. 4. 2019.

KONCENTRACE CÍLOVÝCH MARKERŮ V POZITIVNÍCH VZORCÍCH

V sérii EHK–1068 činily koncentrace HBV-DNA naměřené v NRL-VH $6,5 \times 10^1$ IU/ml (vzorek 2), $1,6 \times 10^2$ (vzorek 1), $1,3 \times 10^3$ (vzorek 5) a $2,2 \times 10^4$ (vzorek 6). V sérii EHK–1069 činily naměřené koncentrace HCV-RNA $1,8 \times 10^2$ IU/ml (vzorek 4), $5,6 \times 10^2$ (vzorek 5), $4,3 \times 10^3$ (vzorek 6) a $2,6 \times 10^4$ (vzorek 1).

Výsledky získané v referenční laboratoři nelze brát jako přesný standard. Při testování nukleových kyselin metodou PCR existuje přirozený rozptyl hodnot v závislosti na typu použité soupravy i specifických podmínkách každého běhu.

Kvantifikace pozitivních výsledků nebyla povinná ani bodově hodnocená, výraznější nepřesnosti se však promítly do komentáře referenční laboratoře. Celkem kvantifikovalo své výsledky 23 laboratoří u markeru HBV-DNA (74 %) a 29 u markeru HCV-RNA (78 %).

VÝSLEDKY LABORATOŘÍ

Celkové výsledky ukazuje **tabulka 1**, kvantitativní hodnoty získané účastníky jsou shrnuty v tabulkách 2–3 (NRL-VH figuruje ve všech tabulkách pod pořadovým č. 1).

Laboratoře, které testovaly některý z markerů více testy, jsou v tabulkách 2–3 uvedeny ve dvou řádcích.

Počínaje rokem 2018 začala NRL-VH zařazovat do kontrolních sérií velmi slabě pozitivní vzorky (méně než 100 IU/ml) pro lepší zmapování citlivosti používaných souprav. V loňském roce bylo tímto způsobem prověřeno testování HCV-RNA, v letošním roce HBV-DNA. Zaznamenané výsledky jsou celkově příznivější u HBV-DNA. Pro ilustraci uvádíme srovnání úspěšnosti u nejslabších pozitivních vzorků za oba roky:

Rok 2018
HBV-DNA (EHK–1013)
vzorek 6; koncentrace $1,5 \times 10^2$ IU/ml: pozitivitu nezachytila 1 z 29 laboratoří (3,5 %)

Rok 2018
HCV-RNA (EHK–1014)
vzorek 5; koncentrace $7,2 \times 10^1$ IU/ml: pozitivitu nezachytilo 13 z 34 laboratoří (38,2 %)

Rok 2019
HBV-DNA (EHK–1068)
vzorek 2; koncentrace $6,5 \times 10^1$ IU/ml: pozitivitu nezachytily 2 z 31 laboratoří (6,5 %)

Rok 2019
HCV-RNA (EHK–1069)
vzorek 4; koncentrace $1,8 \times 10^2$ IU/ml: pozitivitu nezachytily 4 z 37 laboratoří (10,8 %)

Celkem chybovalo v letošním roce 5 laboratoří, z toho tři vykázaly po jednom neshodném výsledku a dvě po dvou neshodných výsledcích:

Laboratoř s poř. č. 3
nezachytila pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK–1069

Laboratoř s poř. č. 7
nezachytila pozitivitu HBV-DNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 2 v sérii EHK–1068

Laboratoř s poř. č. 12
nezachytila pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK–1069

Laboratoř s poř. č. 28
nezachytila pozitivitu HBV-DNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 2 v sérii EHK–1068 ani pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK–1069

Laboratoř s poř. č. 34

nezachytila pozitivitu HCV-RNA u nejslabšího (nebodovaného) vzorku 4 v sérii EHK-1069 ani pozitivitu HCV-RNA u silnějšího (bodovaného) vzorku 5 v sérii EHK-1069

Z uvedeného přehledu plyne, že 6 neshodných výsledků bylo zaznamenáno u nebodovaných (nejslabších pozitivních) vzorků (2× HBV-DNA, 4× HCV-RNA) a pouze 1 u bodovaného vzorku. Bodovanou chybou byla falešná negativita HCV-RNA u vzorku 5 v sérii EHK-1069 a laboratoř, která ji vykazala, jako jediná za tento marker neuspěla.

Kvantitativní hodnoty lze studovat v **tabulkách 2-3**, přičemž ojediněle se některé laboratoře vzdály až o řád od koncentrace naměřené v NRL-VH. Největší odchylky zaznamenala laboratoř s poř. č. 34 při kvantifikaci pozitivních výsledků HCV-RNA (jediná neúspěšná laboratoř – viz výše). Celkově byl rozptýl hodnot zhruba srovnatelný s předchozími ročníky.

Série EHK-1068 a 1069 lze hodnotit pozitivně. Všechny laboratoře, které obdržely hodnocení „úspěšná“, splňují minimální požadovaná kritéria, byť někdy používají metody s mírně nižší citlivostí a měly by si být této skutečnosti vědomy.

Tabulka 1: Souhrnné výsledky v sériích EHK-1068 a 1069 (P = pozitivní, N = negativní)

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

V záhlaví tabulky 1 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; proškrtnuté pole znamená, že laboratoř marker netestovala. 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-VH je v tabulce uvedena pod č.1.

Tabulka 2: Kvantitativní výsledky HBV-DNA v sérii EHK-1068 (P = pozitivní, N = negativní)

Poř.č. lab.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+	+	N	N	+++	+++	
1-NRL	1,57×10e2	6,47×10e1	N	N	1,34×10e3	2,22×10e4	IU/ml
2	P	P	N	N	P	P	
3	1,79×10e2	7,26×10e1	N	N	3,10×10e3	1,27×10e3	IU/ml
4	1,68×10e2	3,99×10e1	N	N	2,57×10e3	2,12×10e4	IU/ml
5	6,21×10e2	2,32×10e2	N	N	3,62×10e3	1,99×10e4	IU/ml
6	3,44×10e2	1,21×10e2	N	N	4,38×10e3	4,42×10e4	IU/ml
7	P	N	N	N	P	P	
8	P	P	N	N	P	P	
9	P	P	N	N	P	P	
10	P	P	N	N	P	P	
11	1,33×10e2	1,35×10e2	N	N	2,61×10e3	2,19×10e4	IU/ml
12	3,21×10e2	3,65×10e1	N	N	3,38×10e3	2,77×10e4	IU/ml
13	P	P	N	N	P	P	
14							
15	2,25×10e2	1,39×10e2	N	N	2,74×10e3	2,75×10e4	IU/ml
16							
17	2,70×10e2	1,34×10e2	N	N	2,42×10e3	2,07×10e4	IU/ml
18	2,28×10e2	1,14×10e2	N	N	2,26×10e3	2,04×10e4	IU/ml
19							
20	P	P	N	N	P	P	
21	1,93×10e2	8,90×10e1	N	N	2,16×10e3	2,08×10e4	IU/ml
22	1,30×10e2	4,30×10e1	N	N	1,10×10e3	1,00×10e4	IU/ml
23	3,30×10e1	1,50×10e1	N	N	2,02×10e2	1,78×10e3	IU/ml
24	5,19×10e2	2,36×10e2	N	N	3,86×10e3	6,61×10e4	IU/ml
25	3,05×10e2	1,72×10e2	N	N	1,22×10e3	1,49×10e4	IU/ml
	2,68×10e2	1,36×10e2	N	N	2,61×10e3	2,57×10e4	IU/ml
26	2,34×10e2	1,16×10e2	N	N	2,47×10e3	3,21×10e4	IU/ml
27							
28	4,34×10e2	N	N	N	1,48×10e3	1,02×10e4	IU/ml
29	P	P	N	N	P	P	
30	2,26×10e2	1,42×10e2	N	N	2,70×10e3	1,87×10e4	IU/ml
31	1,70×10e2	1,83×10e2	N	N	5,28×10e3	3,78×10e4	IU/ml
32							
33	4,20×10e2	1,30×10e2	N	N	6,60×10e3	6,10×10e4	IU/ml
34	3,83×10e2	1,05×10e2	N	N	5,80×10e3	7,22×10e4	cop/ml
35							
36	3,30×10e2	1,50×10e2	N	N	3,10×10e3	2,50×10e4	IU/ml
37	1,55×10e2	8,00×10e1	N	N	2,25×10e3	2,11×10e4	IU/ml
38	4,62×10e1	3,62×10e1	N	N	5,65×10e2	5,28×10e3	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Laboratoř č. 25 vyšetřovala HBV-DNA dvěma testy. Pořadová čísla laboratoří v této

tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL-VH uvedena pod číslem 1).

Tabulka 3: Kvantitativní výsledky HCV-RNA v sérii EHK-1069 (P = pozitivní, N = negativní)

Poř. č. lab.	1	2	3	4	5	6	jednotky
	+++	N	N	+	++	+++	
1-NRL	2,62×10e4	N	N	1,81×10e2	5,58×10e2	4,31×10e3	IU/ml
2	P	N	N	P	P	P	
3	4,30×10e4	N	N	N	8,98×10e2	2,82×10e3	IU/ml
4	2,23×10e4	N	N	1,29×10e2	2,43×10e2	2,71×10e3	IU/ml
5	7,58×10e4	N	N	3,58×10e2	3,50×10e2	4,24×10e3	IU/ml
6	2,75×10e4	N	N	1,99×10e2	3,60×10e2	2,50×10e3	IU/ml
7	P	N	N	P	P	P	
8	P	N	N	P	P	P	
9	P	N	N	P	P	P	
10	P	N	N	P	P	P	
11	2,59×10e4	N	N	1,30×10e2	4,78×10e2	4,02×10e3	IU/ml
12	7,12×10e4	N	N	N	9,14×10e2	1,16×10e3	IU/ml
13	P	N	N	P	P	P	
14	3,29×10e4	N	N	3,24×10e2	6,42×10e2	4,28×10e3	IU/ml
15	3,22×10e4	N	N	1,05×10e2	2,49×10e2	2,42×10e3	IU/ml
16	1,90×10e4	N	N	9,60×10e1	2,96×10e2	2,63×10e3	IU/ml
17	3,50×10e4	N	N	1,71×10e2	4,11×10e2	3,26×10e3	IU/ml
18	3,63×10e4	N	N	9,84×10e1	2,80×10e2	3,58×10e3	IU/ml
19	2,11×10e4	N	N	1,26×10e2	2,62×10e2	2,90×10e3	IU/ml
20	P	N	N	P	P	P	
21	2,84×10e4	N	N	2,27×10e2	4,83×10e2	4,37×10e3	IU/ml
22	2,60×10e4	N	N	1,20×10e2	3,80×10e2	3,60×10e3	IU/ml
23	2,44×10e4	N	N	4,29×10e2	1,29×10e3	4,71×10e3	IU/ml
	4,23×10e4	N	N	4,90×10e1	3,49×10e2	3,42×10e3	IU/ml
24	3,75×10e4	N	N	9,90×10e1	2,37×10e2	2,74×10e3	IU/ml
25	7,60×10e3	N	N	1,65×10e1	6,60×10e1	8,20×10e2	IU/ml
	2,06×10e4	N	N	9,50×10e1	2,41×10e2	2,59×10e3	IU/ml
26	1,99×10e4	N	N	5,60×10e1	1,89×10e2	2,11×10e3	IU/ml
27	5,95×10e4	N	N	9,00×10e1	3,21×10e2	2,79×10e3	IU/ml
28	1,94×10e4	N	N	N	5,60×10e1	1,47×10e3	IU/ml
29	P	N	N	P	P	P	
30	5,61×10e4	N	N	3,39×10e2	7,63×10e2	5,35×10e3	IU/ml
31	3,55×10e4	N	N	9,50×10e1	5,07×10e2	3,48×10e3	IU/ml
32	3,00×10e4	N	N	1,00×10e2	2,00×10e2	2,00×10e3	IU/ml
33	3,60×10e4	N	N	4,10×10e2	2,00×10e2	4,90×10e3	IU/ml
34	1,15×10e3	N	N	N	N	1,28×10e2	IU/ml
35	2,24×10e4	N	N	1,03×10e2	2,01×10e2	2,38×10e3	IU/ml
36	8,80×10e3	N	N	5,60×10e1	9,50×10e1	5,90×10e2	IU/ml
37	6,00×10e4	N	N	2,50×10e2	4,40×10e2	4,20×10e3	IU/ml
38	3,03×10e4	N	N	1,24×10e2	2,26×10e2	3,52×10e3	IU/ml

Laboratoře, u nichž nejsou uvedeny číselné hodnoty, své výsledky nekvantifikovaly. Laboratoře č. 23 a 25 vyšetřovaly HCV-RNA dvěma testy. Pořadová čísla laboratoří v této

tabulce nemají souvislost s jejich zavedenými kódy v EHK (NRL-VH uvedena pod číslem 1).

*Mgr. Pavel Fritz
NRL pro virové hepatitidy
CEM – SZÚ*