

Vysvětlení stanoviska lékařské mikrobiologie k validaci a verifikaci.

Dokument SLM k validacím a verifikacím v mikrobiologii evokoval některé reakce, ze kterých vyvozujeme, že nebyly pochopeny důvody, proč naše stanovisko vzniklo a proč se v některých bodech liší od stanoviska biochemické a imunologické společnosti.

SLM byla vedena snahou stanovit taková pravidla, která jsou reálně splnitelná. Formálně dokonalá pravidla, která nejsou založena na reálných možnostech oboru, vedou k tomu, že jsou jak kandidáti akreditace, tak posuzovatelé nuceni je obcházet. To požadujeme za nežádoucí. Proto požadujeme raději méně s tím, že je lepší nastavit nejprve měkčí požadavky, které lze postupně zpřísnovat, než nastavit přísná ale nesplnitelná pravidla.

Návrh mikrobiologických společností nezpochybňuje původní dokument, přijatý RAKL. Pouze odráží specifické vlastnosti analytu – polyklonálních protilátek. Pokud je nebo bude možné původní dokument RAKL v mikrobiologii aplikovat, nijak se tomu nebráníme. Odlišnost, nebo řekněme výjimečnost mikrobiologie je stejná, jako výjimečnost ostatních oborů. Výjimečný je subjekt mikrobiologie, metody jsou podobné, jako v jiných oborech. Stejně tak je výjimečný subjekt biochemie, imunologie, hematologie a dalších oborů. Proto to jsou samostatné obory. Metoda je prostředek, nikoliv cíl. Proto také neuzíváme a neuznáváme termín laboratorní medicína, považujeme ho za nebezpečné nadřazování technologie nebo metodologie nad odbornost.

Souhlasíme, že metoda stanovení EIA, RIA a další modifikace těchto metod jsou v principu podobné a že se používají v řadě oborů. Jenže při vyšetření nejde v první řadě o metodu stanovení, tedy postup, ale o sledovaný analyt. A zde se pravděpodobně shodneme, že je rozdíl, zda metodou stanovujeme dobře definovaný analyt, nebo protilátky.

Protilátky a jejich tvorba je dynamický proces. Protilátky se tvoří polyklonálně a jednotlivé klony se v průběhu infekce objevují postupně a protilátky podléhají afinní maturaci. Nestanovujeme přítomnost protilátek jako bílkovin v jednotlivých třídách, ale stanovujeme reaktivitu protilátek se sadou antigenů (více či méně přesně definovaných) použitých v soupravě konkrétního výrobce. Reaktivita protilátek závisí jednak na epitopu antigenu, proti kterému se protilátky tvoří, afinní maturaci a individuálních rozdílech jak hostitele, tak mikroorganismu (MHC, mutace mikroorganismu). Imunitní systém pracuje s vysokou individuální variabilitou a vyznačuje se pamětí. Proto prakticky nelze stanovit (až na výjimky např. stanovení imunity po vakcinaci proti HBV nebo tetanu) referenční meze a „normální hodnoty“.

Z principiálních důvodů neexistují standardy ve smyslu mezinárodně uznávaných referenčních sér. Každý výrobce používá ve svých soupravách jiné antigeny, nebo antigeny jinak opracované. V případě, že používá arbitrární jednotky má je každý výrobce jinak nastavené. Každá metoda by se tudíž musela verifikovat na séra, vyšetřená a „standardizovaná“ konkrétním výrobcem. Proto tvrdíme, že nejde o kvantitativní metody v pravém slova smyslu. Kvantita je vztažena pouze a jedině ke konkrétnímu výrobku konkrétní firmy. Bylo by nutné udělat to, že by se vypracovaly metody validace/ verifikace a stanovily „referenční meze“ pro soupravy jednotlivých výrobců (např. arbitrární jednotky pro kvantifikaci IgG proti CMV jsou dost odlišné mezi soupravami Sorin, BioRad, Abbott, bioMérieux a vzhledem k odlišné charakteristice kalibračních křivek nelze použít ani přepočítávací koeficient). Přílišnou orientaci na výrobce považujeme za velmi nežádoucí, navíc by to neřešilo možnost, že výrobce přejde na novou technologii nebo bude fúzovat a

celý systém se bude muset předělat. Proto jsme volili minimální variantu validace i verifikaci metody a naopak klademe značnou váhu na formu a interpretaci výsledku.

Dále byl vznesen dotaz, proč mikrobiologie neřeší mol. genetické metody a metody průkazu antigenu. Metody průkazu antigenu jsou v dokumentu zmíněné. Molekulárně genetické metody lze posuzovat podobně a nepovažujeme za nutné pro ně vypracovávat samostatné doporučení.

Dotaz, zda autoři dokumentu znají normu 15189 nekomentují. Většina spoluautorů dokumentu jsou posuzovatelé ČIA případně NASKL a minimálně rámcovou znalost normy mají. Kromě toho jsme naše stanovisko a problémy projednávali a ing. Zdílnou, zástupcem ČIA o kterém předpokládáme, že uvedenou normu zná velmi dobře. Zástupce ČIA považuje naše závěry z hlediska dodržení normy za akceptovatelné.

Dále je v jednom dotazu směřován pojem standardizace metod a standardizace výstupů. Standardní metody v mikrobiologii popisují doporučený postup vyšetření případně vydávání výsledků a jejich interpretaci. Nestanovují „normální hodnoty“ nebo jiné standardní výstupy jednotlivých metod. Netvrdíme, že každé vyšetření je neopakovatelný biologický pokus. Pouze tvrdíme, že není možné stanovit normální hodnoty a referenční meze stejným způsobem, jako je má vypracovány např. biochemická společnost pro jejich analyty. Opět se vrátím k příkladu – i když ve dvou soupravách pro vyšetření protilátek proti CMV dostanu zcela odlišné číslo, výsledek (nebo alespoň jeho slovní hodnocení) a jeho interpretace bude stejná. Což je podle našeho názoru smyslem celého dokumentu.

Za pracovní skupinu SLP

Eva Žampachová