

Ministerstvo zdravotnictví
Palackého náměstí 375/4
128 01 Praha 2

V Praze dne 18. dubna 2021

Věc: Stížnost proti postupu ZÚO při poskytování zdravotních služeb

Dobrý den,

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě obdržel dne 2.3. 2020 Rozhodnutí Ministerstva zdravotnictví ze dne 10.2.2021 č.j. MZDR 3028/2021-/PRO, kterým nadřízený orgán rozhodl, že se Zdravotnímu ústavu se sídlem v Ostravě dle § 16a odst.6 písm. b) informačního zákona příkazuje, aby ve lhůtě 15 dnů ode dne doručení tohoto rozhodnutí vyřídil žádost stěžovatelky ze dne 12.12. 2020 mj. v bodě 4) - poskytnutí informace ohledně detailního postupu provádění testu viability viru.

Zdravotní ústav Ostrava tak na nařízení MZ ČR poskytl informaci a zaslal metodický pokyn, podle kterého provádí na svém pracovišti testy viability/kultivace viru:

Detailní postup kultivační metody - viability viru

Pro kultivaci viru SARS-CoV-2 se používají buněčné kultury CV-1 (buňky ledvin kočkodana zeleného) v monolayeru (jednovrstevný buněčný povlak) v kultivačních zkumavkách typu Leighton. Po odsátí udržovacího média se do zkumavky napipetuje 300 µl vyšetřovaného vzorku, kterým je výtěr z nosohltanu ve virologickém odběrovém médiu, který byl použit na vyšetření metodou RT-PCR SARS-CoV-2. Vzorky jsou očkované nejpozději do 24 hodin po odběru nebo jsou až do naočkování uloženy při -80°C a rozmrazeny až bezprostředně před naočkováním. Zkumavky uložíme do stojánků v šikmé poloze do termostatu při 37°C na dobu 30 minut.

Paralelně se vzorky kultivujeme buňky i v kontrolních zkumavkách, do nichž je místo vzorku aplikováno 300 µl udržovacího média (E-MEM, Sigma-Aldrich). Poté do všech zkumavek, včetně kontrolních, napipetujeme 1,7 ml udržovacího média. Inkubujeme v termostatu při 37 °C a prohlížíme zkumavkové kultury v inverzním mikroskopu při 100 až 200 násobném zvětšení, přičemž hodnotíme morfologické změny buněk – rozvoj cytopatického efektu (CPE) vznikající v důsledku infekce buněk virem přítomným ve vzorku. Zároveň kontrolujeme i kontrolní zkumavky. Jakmile je cytopatického efektu dosaženo přibližně v 75 % buněk ve zkumavce, provedeme druhou pasáž. Po 7 dnech provedeme 2. pasáž i u těch vzorků, ve kterých není patrný cytopatický efekt, a pokračujeme v kultivaci dalších 7 dní. Pokud ani po dalších 7 dnech nedojde k cytopatickému efektu, ukončíme izolační pokus jako negativní. Ve zkumavkách s pozitivním cytopatickým efektem ověřujeme přítomnost SARS-CoV-2 metodou RT-PCR.

Popsaný postup vážným způsobem porušuje metodologické zákonitosti provádění řízeného experimentu.¹

To je ovšem základní předpoklad, že daná metoda je použita *lege artis*. Pokud v laboratoři probíhá proces, jehož vyhodnocení je odvislé od toho, jak se liší jeho průběh a výsledek od kontrolního experimentu, je nezbytné, aby oba procesy, tedy „ostrý“ a „kontrolní“ experiment probíhaly za jinak stejných podmínek. Pokud je účelem metody vyhodnotit přítomnost a infekce schopnost zkoumaného patogenu prostřednictvím předpokládaného účinku na pozorované buněčné kultury (cytopatického efektu), je úkolem laboratoře zajistit, aby se oba experimenty lišily pouze případnou přítomností - nepřítomností nezávislé proměnné, testovaného patogenu.

Tuto podmínku metodika procesu kultivační metody - testu viability viru - prováděné na pracovišti ZÚO nespĺňuje z těchto důvodů:

- a) **Odlíšnost výchozího biochemického složení ostrého a kontrolního experimentu.** Do kontrolních zkumavek se nedává žádný biologický vzorek odebraný identickým způsobem zdravé osobě ani virologické odběrové médium, které obsahuje celou řadu chemikálií. Jedná se o tzv. **řízené proměnné** a ty musí být v obou vzorcích identické. **Postup ZÚO je nepřipustný a výsledek takového testu je z vědeckého pohledu bezpředmětný.**
- b) **Ve zkumavkách bez projevu cytopatického efektu se neověřuje přítomnost SARS-CoV-2.** Není tak možno vyloučit, že by přítomnost SARS-CoV-2 byla potvrzena i u vzorků bez cytopatického efektu a CPE by tak evidentně nebyl způsoben SARS-CoV-2. **Opět je to diskvalifikační postup a jeho výsledky nemají vědeckou výpovědní hodnotu.**
- c) **K potvrzení přítomnosti SARS-CoV-2 je použit test založený na metodě RT-PCR výrobce Diana Biotechnologies.** Dle návodu k tomuto testu výrobce vyhodnotil senzitivitu a specifitu testu srovnáním s blíže neurčenými testy, taktéž založenými na metodě RT-PCR. Ze znalosti návodů k testům založených na metodě RT-PCR a schválených k užívání v ČR neexistuje jediný výrobce RT-PCR testu, který by při validaci postupoval jinou metodou, než srovnáním s jinými komerčně dostupnými PCR testy. (Což shodně potvrzuje mezinárodní vědecká literatura). **Skutečná specifita a senzitivita**, tzn. míra shody pozitivního výsledku testu se skutečnou přítomností patogenu v testovaném vzorku a skutečná míra shody negativního výsledku testu s jeho absencí ve zkoumaném vzorku, **nebyla**

¹ Definice řízeného experimentu (Controlled experiment) - <https://biologydictionary.net/controlled-experiment/>

Řízený experiment je vědecký postup, který je přímo manipulován vědcem, aby otestoval vliv jedné proměnné během jednoho pozorovaného procesu. Testovaná proměnná je nezávislá proměnná a upravuje se tak, aby se zjistily účinky na pozorovaný systém. Řízené proměnné jsou konstantní, aby se minimalizovaly nebo stabilizovaly jejich účinky na objekt. V biologii kontrolovaný experiment často zahrnuje omezení prostředí studovaného [organismu](#). To je nezbytné k minimalizaci náhodných účinků prostředí a mnoha proměnných, které existují ve volné přírodě.

V kontrolovaném experimentu je pozorovaný objekt často rozdělen do dvou skupin. Jedna skupina obdrží změnu v určité proměnné, zatímco druhá skupina obdrží standardní prostředí a podmínky. Tato skupina se označuje jako kontrolní skupina a umožňuje srovnání s druhou skupinou, známou jako experimentální skupina. Mnoho typů kontrol existuje v různých experimentech, které jsou navrženy tak, aby zajistily, že experiment fungoval, a aby měly základ pro srovnání. Ve vědě jsou výsledky přijímány pouze tehdy, pokud lze prokázat, že jsou statisticky významné. Statistci mohou použít rozdíl mezi kontrolní skupinou a experimentální skupinou a očekávaný rozdíl k určení, zda experiment podporuje hypotézu, nebo zda byla data jednoduše vytvořena náhodou.

nikdy vyhodnocena ani u testu, který používá ZÚO, ani u žádného jiného testu na SARS-CoV-2. Z vědeckého hlediska takový test není možné použít pro confirmaci přítomnosti/absence patogenu v pozorovaném vzorku.

d) Tímto experimentem se pozorují dvě proměnné:

- i) přítomnost viru SARS-CoV-2 a
- ii) jeho infekční patogenní schopnost.

V takovém případě je nutné vyloučit, že průkaz patogenity a infekčnosti - opakované způsobení CPE na buněčných kulturách je způsobeno pouze a jedině tímto patogenem. **Metodika použitá ZÚO neprovádí kontrolu, která by vyloučila, že k cytopatickému efektu buněčných kultur nedochází samotnou přítomností a působením řízených proměnných v pozorovaném experimentu bez jakéhokoli vlivu suspektního patogenu.**

Musíme upozornit MZ ČR, do jehož působnosti tato odborná instituce/ poskytovatel zdravotních služeb spadá, že tento metodický pokyn je v přímém rozporu s vědeckými metodami a na základě takového postupu zjevně dochází k vědecky neprokázaným, tedy špatným a nahodilým výsledkům, které z povahy činnosti zřizované organizace dle §86 odst. 1 citovaného zákona – provádění **specializované diagnostické péče** – mají přímý vliv na zdraví lidí, jejichž vzorky jsou touto metodou posuzovány.

Do zákonné povinnosti ZÚO spadá také provádět „klinické hodnocení účinků léčiv, očkovacích látek a zdravotnických prostředků“. ZÚO provedl v říjnu-listopadu 2020 spolu s nemocnicí v Karviné studii, která vyhodnocovala senzitivitu a specificitu antigenních testů právě srovnáním s testem viability (<https://zuova.cz/Content/files/novinky/20201201-vysledky-studie-antigennich-testu.pdf>).

Vzhledem k tak zásadnímu metodologickému pochybení je nutno považovat výsledky této studie za bezpředmětné a neprověřené, ale především **jakékoli výsledky diagnostiky provedené na základě takto provedené metodiky je nezbytné okamžitě anulovat a provést bezodkladně diagnózu u všech postižených pacientů nově.**

Je povinností MZ ČR zajistit, aby ZÚO vypracoval novou metodiku provádění testů viability, která bude splňovat veškeré nároky pro provádění vědeckého řízeného experimentu a také, že bude používat korektně validované testovací soupravy.