

KVALITETNO DELO V GENETSKEM DIAGNOSTIČNEM LABORATORIJU

ALENKA ERJAVEC ŠKERGET

Sprejeto

10. 11. 2021

Izdano

31. 3. 2022

Univerzitetni klinični center Maribor, Klinika za ginekologijo in perinatologijo,
Laboratorij za medicinsko genetiko, Maribor, Slovenija.
E-pošta: alenka.erjavec@guest.arnes.si

DOPISNI AVTOR

alenka.erjavec@guest.arnes.si

Povzetek V genetskem diagnostičnem laboratoriju UKC Maribor se zavedamo, da je kakovost preiskav, ki se v laboratoriju izvajajo, pomemben člen in pomoč zdravnikom pri postavljanju diagnoz, spremljanju in zdravljenju bolezni naših pacientov. Zato uporabnikom nudimo storitve, ki izpolnjujejo cilj našega sistema kakovosti v skladu s Pravilnikom o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine izdanim v UL. Št. 64, 11. 6. 2004. Laboratorij za medicinsko genetiko UKC Maribor je pridobil dovoljenje za delo, za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicinske genetike. Kakovost preiskav zagotavljamo z vsakodnevnim in sprotnim izvajanjem notranje kontrole kakovosti posameznih postopkov in analizatorjev. Sodelujemo v obvezni mreži zunanjih evropskih kontrol kakovosti EMQN, EQA, CEQAS, GENQA. Z uvajanjem in preverjanjem novih metod med laboratorijsko kontrolo zagotavljamo primerljivost rezultatov analiz v procesih validacije in verifikacije. Udeleženi smo tudi pri izvajanju in obnavljanju ISO standarda ISO9001: 2015. Od leta 2019 UKC Maribor sodeluje v shemi Sistem International Accreditation Standards AACI Vers.5.0. Delo s pacientovim biološkim materialom, ravnanje z izvidi, spremljanje zdravstvenih stanj naših bolnikov, kot tudi raziskovalno delo na pacientovem materialu, zahteva specifično deontološko znanje, ki ga vršimo s spoštovanjem Kodeksa deontologije v laboratorijski medicini.

Ključne besede:

kontrola
kvalitete,
kontrola
kakovosti,
genetski
laboratorij,
humana
genetika



<https://doi.org/10.18690/po.16.1.35-44.2022>

Besedilo © Škerget, 2022

1 Uvod

Cilj vsake medicinske kvalitetne obravnave je dosegati največjo možno mero KAKOVOSTNIH oz. kvalitetnih storitev za pacienta. Za zagotovitev najvišje kakovosti v genetskem smislu to pomeni zagotovitev preverjenosti (validacija in verifikacija), zagotovitev pravilnosti in tako omogočiti klinično uporabnost rezultata. Kvalitetna genetska laboratorijska obravnava tako zajema analitsko validacijo, ki omogoča zanesljivost rezultata, zajema tudi klinično validacijo (kar omogoča povezavo analize s specifično boleznijo) ter oceno oz. ovrednotenje klinične uporabnosti testa, kar omogoča povezavo analize z upravljanjem diagnosticirane bolezni. V ta namen obstajajo različne organizacije oz. združenja, ki zagotavljajo in spremljajo tovrstne obravnave. Na temo kvalitetne obravnave vzorcev v genetskem laboratoriju je bilo v letu 2020 opravljeno srečanje v okviru Združenja za medicinsko genetiko Slovenije, kjer smo vsi genetski laboratoriji pripravili prispevke in poročali o dosedanjem genetskem delu v laboratoriju. Srečanje je bilo namenjeno diskutiranju in pripravi novih smernic in priporočil za delo ter poenotenju pravil na področju izboljšave kvalitetnega dela genetskih laboratorijev v Sloveniji.

2 Laboratorij za medicinsko genetiko v UKC Maribor

Laboratorij za medicinsko genetiko v UKC Maribor je bil ustanovljen v sklopu diagnostičnih dejavnosti v takratni Splošni bolnišnici Maribor leta 1991. Svojo dejavnost od takrat opravlja v prostorih današnjega UKC Maribor, kjer je zasnovan kot diagnostično - raziskovalni laboratorij. Laboratorij nudi genetske preiskave na področju podedovanih in pridobljenih genetskih sprememb in prenatalne genetske diagnostike ter genetike raka. Strokovno usposobljen kader opravlja analize kromosomskih in genskih mutacij, variabilnosti ter presežkov in primanjkljajev genetskega materiala v humanem genomu. Genetske analize se opravljajo pri preiskovancih s sumom na genetsko obolenje ali sindrom ter pri preiskovancih s sumom na genetsko predispozicijo za določene kompleksne bolezni. Laboratorij za medicinsko genetiko v UKC Maribor je organizacijsko uvrščen pod Skupne službe Klinike za ginekologijo in perinatologijo.

3 Kakovost v UKC Maribor

Sistem vodenja kakovosti je na nivoju UKC Maribor pod nadzorom Centra za kakovost, ki posreduje navodila, napatke in vzdržuje celotno področje kakovosti. V Sloveniji je v veljavi sicer več mednarodnih akreditacijskih standardov za zdravstvene organizacije; od leta 2017 je UKC MB pridobil standard ISO9001: 2015 in v okviru tega smo kot Laboratorij za medicinsko genetiko bili preverjeni tudi mi. Od leta 2019 UKC Maribor sodeluje v shemi Sistem International Accreditation Standards AACI Vers.5.0, v okviru tega standarda imamo vsakoletne presoje tudi v Laboratoriju za medicinsko genetiko.

Krovni dokument sistema kakovosti v UKC Maribor je Poslovnik kakovosti poslovanja UKC Maribor. Na njega imamo vezane dokumente sistema kakovosti, ki se nanašajo na delovanje laboratorija. LMG: Organizacijski predpis z naslovom Proces medicinske genetike ter pripadajoči obrazci OB Organizacijska struktura v LMG in Poslovnik kakovosti s splošnimi informacijami LMG. Preko teh dokumentov podajamo načela delovanja, urejamo in povezujemo sistem kakovosti Laboratorija za medicinsko genetiko, skladno z zahtevami statuta UKC MB, standardi ISO 9001:2015 in Pravilnika o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine (UL RS, št. 64/2004 in 01/16).

Vsa dokumentacija sistema kakovosti je v UKC MB organizirana v obliki hierarhične strukture po nivojih: prvi, najvišji nivo predstavlja krovni dokument ustanove: Poslovnik kakovosti UKC MB; na 2. nivoju so predstavljeni posamezni organizacijski procesi, ki potekajo v UKC MB; tretji nivo predstavljajo organizacijska navodila oz. Pravilniki po posameznih področjih. Četrty nivo predstavlja dokumentacija v obliki NAV (navodil) in SOP (standardni operativni postopek), 5. nivo pa dokumentacija v obliki OBR (obrazci) in PRIL (priloge) znotraj posameznega procesa. Dokumentacija v Laboratoriju tako obsega osnovni krovni dokument, ki predstavlja 2. nivo, gre za organizacijski proces z imenom Proces medicinske genetike. V dokumentu je predstavljeno področje dela, ki je razdeljeno na dva dela: citogenetsko področje in molekularno genetsko področje. Nadaljnja dokumentacija laboratorija je organizirana na naslednjih nivojih (3. 4. in 5. nivo in trenutno predstavlja 63 izdanih SOP-ov, 27 izdanih navodil in 71 izdanih obrazcev. Obvladujemo 202 aparaturnih map, ki jih imajo vse aparature, od katerih predstavljajo avtomatske pipete približno tretjino.

4 Metodologija dela

4.1 Nadzor in zagotavljanje kakovosti dela v laboratoriju

V LMG zagotavljamo nadzor izvajanja nad postopki in procesi pred, med in po preiskavi posameznega vzorca preko sistema kakovosti s spremljanjem posameznih analiz, zabeležk in zapisov na delovne liste, v Laboratorijske dnevnike ali zabeležimo spremembe v SOP-ih. Vso delo temelji na najnovejših evropskih smernicah, ki jih spremljamo in jih upoštevamo.

4.2 Organizacija notranje kontrole kakovosti

Notranja kontrola kakovosti v LMG je organizirana v skladu z navodili v posameznem SOP-u za določeno preiskavo opisano v točki 5.7 (kontrolni postopek). Za področje citogenetike (CGL) izvajamo notranje preverjanje zaradi subjektivno pridobljenih rezultatov, ki so kvalitativne narave (gre za vizualno vrednotenje preko mikroskopiranja) preko naslednjih kontrolnih točk:

- vzpostavitev vzporednih celičnih kultur,
- neodvisna subjektivna analiza dveh analitikov,
- pregled supervizorja,
- pravilno vzdrževana organizacija in kalibracija merilne opreme,
- usposobljenost kadra,
- zagotovitev sledljivosti in identifikacije vzorca.

Za področje molekularne genetike (MGL) je notranja kontrola prisotna pri vsakokratnem izvajanju določene diagnostične analize, kar pomeni sprotno uporabo pozitivne, negativne in ničelne kontrole pri vsaki analizi.

Poleg tega izvajamo notranjo kontrolo še preko potrditve patoloških oz. kritičnih rezultatov z drugo vrsto analize, če je to možno. Vse rezultate pregleda in ovrednoti še supervizor, opravljamo pa še občasne nenamenske kontrole glede sledljivosti in identifikacije vzorca.

4.3 Sodelovanje v zunanji oceni kakovosti

LMG vsako leto sodeluje še v zunanji oceni kakovosti preko evropske genetske mreže (EMQN, GENQA).

Za področje **citogenetike** smo v evropskih shemah preverjanja sodelovali od leta 2010 do 2019 v t.i. shemi CEQAS. Od leta 2019 z naborom citogenetskih preiskav vključeni v mrežo GENQA. Od nabora preiskav s citogenetskega področja, ki jih izvajamo, gre za kariotipizacije iz periferne krvi, amnijske tekočine, horionskih resic in kostnega mozga, sodelujemo v shemah izmenjave, po letih (Tabela 1). V okviru molekularno-citogenetske diagnostike, ki pretežno zaobjema zaobjema analizo s FISH tehniko, imamo pridobljen certifikat na dveh vrstah tkiv: kostni mozeg in amnijske celice s hitro prenatalno analizo. Sicer opravljamo še druge vrste FISH analiz: subtelermerne kromosomske spremembe, mikrodelecijski sindromi, amplifikacija gena Her2, uroVysion test pri raku mehurja. Genomsko diagnostiko, kjer uporabljamo dve tehnologiji, primerjalno genomsko hibridizacijo in novo generacijo sekvenciranja, testiramo vsakoletno.

Tabela 1: Predstavitev shem zunanje kontrole v LMG za citogenetsko področje v letih 2009 do 2020

Leto	Shema	datum izdaje/evropska mreža	Certifikat
2010	CEQA 2010 - amnijske celice Online	31.08.2010/CEQA EQA	pridobljen
2011	CEQA 2011 - perif.venska kri	31.08.2011/CEQA EQA	pridobljen
2012	CEQA 2012 - horionske resice	29.08.2012/CEQA EQA	pridobljen
2013	CEQA 2013 - per.venska kri	31.08.2013/CEQA EQA	pridobljen
2014	CEQAS 2014 - konstitucijske mikromreže (postnatalno)	31.12.2014/CEQAS EQA	pridobljen
2015	CEQAS 2015 - horionske resice (Online)	31.12.2015/CEQAS EQA	pridobljen
2016	CEQAS 2016 - mieloidne preureditve	01.03.2017/CEQAS EQA	pridobljen
2017	CEQA 2017 - mikromreže postnatalno	31.03.2018/CEQAS EQA	pridobljen
	EQA 2017 - molekularna hitra aneuploidija	31.03.2018/CEQAS EQA	pridobljen
2018	GENQA 2018 - prenatalne konstitucijske mikromreže za CNV	30.03.2019/GENQA	pridobljen
2019	GENQA 2019 - postnatalne konstitucijske mikromreže	31.03.2020/GENQA EQA	pridobljen
2020	GENQA 2020 - patogenost germinalne linije pri postnatalnih CNV z mikromrežami	31.03.2020/GENQA EQA	pridobljen
2021	GENQA 2021 - kronična limfocitna levkemija (CLL)	31.03.2021/GENQA EQA	pridobljen

Preiskave s **področja MGL** potekajo v skladu z evropskimi smernicami za laboratorijsko molekularno genetiko in so opisana/predstavljena na straneh EuroGenTest. V okviru evropske mreže so tako predstavljene smernice na treh področjih: (1) smernice, ki vključujejo genetske spremembe, specifične za bolezni; (2) smernice, ki vključujejo genetske spremembe, ki NISO specifične za določeno bolezensko področje (so pa lahko v povezavi z določeno boleznijo); (3) klinično pomembne smernice. Seznam preiskav, ki jih izvajamo s področja molekularne genetike je predstavljen v Tabeli 2.

Tabela 2: Seznam preiskav MGL z opravljenimi zunanji kontrolami v letih 2009 do 2021

1. Določanje HLA-DQB1 genotipa – genetska diagnostika celiakije
2. Določanje mutacije Leiden in polimorfizma v genu za protrombin
3. Določanje mutacij v genu HFE – genetska diagnostika hemokromatoze
4. Določanje mutacij v genu NOD2/CARD15
5. Določanje mikrolecij na kromosomu Y
6. Določanje mutacij v genu MTHFR – genetska diagnostika hiperhomocisteinemije
7. Določanje mutacij v genu PMP22 – genetska diagnostika HMSN tip 1a/HNPP
8. Določanje HLAB27
9. Določanje mutacij v genu za alfa1-antitripsin
10. Določanje mutacij genov SMN1 in SMN2 – gen.diagnostika spinalne mišične atrofije
11. Določanje mutacij v genu za distrofin
12. Določanje spola – dokazovanje prisotnosti kromosoma Y
13. Določanje številčnih kromosomskih abnormalnosti - hitri test (QFPCR analiza)
14. Določanje mutacij v genu CFTR - genetska diagnostika cistične fibroze
15. Določanje mutacij v genu IT15 – genetska diagnostika Huntingtonove bolezni
16. Določanje ponovitev CAG v androgenske receptorju pri diagnostiki bolezni Kennedy
17. Določanje subteloernih strukturnih genomskih variabilnosti – MLPA analiza
18. Določanje mikrolepcijskih sindromov – MLPA analiza
19. Določanje mutacij v genu FMR1 – genetska diagnostika sindroma fragilni X
20. Določanje mutacije v genu UGT1A1 – genetska diagnostika sindroma Gilbert
21. Določanje mutacij v genih MTND1, MTND4, MTND6 – Leberjeve optična atrofija
22. Določanje HLA B51 alela
23. Določanje mutacije V617F v genu JAK2
24. Inaktivacija kromosoma X
25. Določanje Uniparentalne disomije in PRT testiranje
27. Določanje mutacij v genu GJB2 pri naglušnosti
28. Določanje CalR/MPN pri mieloproliferativnih neotvorbah
29. Določanje hematoloških mutacij: Braf, Jak ex12; MYD88; C-KIT
30. Določanje fuzijskega gena bcr/abl z Xpert sistemom
31. Določanje mutacijskega statusa IgHV
32. Določanje mutacije CYP2C9*2*
33. Določanje FLT3 mutacije
34. Določanje PAI mutacije (inhibitor plazminogen aktivatorja 1)

Od leta 2009 sodelujemo pri zunanjih kontrolah v shemah EMQN z različnimi nabori, z letom 2019 pa poleg teh še v shemah GENQA. V tabeli 3 so predstavljene diagnostične preiskave, po letih in vrsti sodelovanja.

Tabela 3: Predstavitev shem zunanje kontrole za molekularno-genetsko področje v letih 2009 do 2020

Leto	Shema	datum izdaje/evropska mreža	Certifikat
2009	Hereditary Haemochromatosis	2009/ EMQN	pridobljen (1,97/2,00)
2010	Y -Chromosome Microdeletion	2010/ EMQN	pridobljen (1,98/2,00)
2011	Huntington Disease	2011/ EMQN	pridobljen (1,97/2,00)
2012	Spinal Muscular Atrophy	2012/ EMQN	pridobljen (1,96/2,00)
2013/14	Duchenne/Becker MD (MLPA)	2013/ EMQN	pridobljen
2015	Fra X (Pre-screen)	2014/ EMQN	pridobljen (1,50/2,00)
2016	Hereditary Haemochromatosis	2016/ EMQN	pridobljen
2017	Prader-Willi/Angelman Sy.	2017/ EMQN	pridobljen (2,00/2,00)
	Molecular Rapid Aneuploidy (QFPCR / MLPA/ BoBs)	2017/CEAQ+EQA	pridobljen
2018	Deafness (DFNB1)	2018/ EMQN	pridobljen (2,00/2,00)
2019	Cardiac (HCM)	2019/ EMQN	pridobljen
2020	Cystic Fibrosis	2020/ GENQA	pridobljen
2021	Chronic Lymphocytic Leukaemia (CLI) IGHV mutation status; TP53 status	2021/ GENQA	v delu

5 Razprava z zaključkom

V genetskem diagnostičnem laboratoriju UKC Maribor se zavedamo, da je kakovost preiskav, ki se v laboratoriju izvajamo, pomemben člen in pomoč zdravnikom pri postavljanju diagnoz, spremljanju in zdravljenju bolezni naših pacientov. Zato uporabnikom nudimo storitve, ki izpolnjujejo cilj našega sistema kakovosti.

Kakovost preiskav zagotavljamo z vsakodnevnim in sprotnim izvajanjem notranje kontrole kakovosti posameznih postopkov in analizatorjev. Sodelujemo v obvezni mreži zunanjih evropskih kontrol kakovosti EMQN, EQA, CEQAS. Z uvajanjem in preverjanjem novih metod med laboratorijsko kontrolo zagotavljamo primerljivost rezultatov analiz v procesih validacije in verifikacije. V skladu s finančnimi zmožnostmi UKC MB sodelujemo letno z največ možnimi shemami, tako da pokrijemo delo na vseh področjih, ki jih izvajamo v laboratoriju: citogenetika, molekularna-genetika, NGS ter klinična genetika. Načrt izvedbe in sodelovanja v zunanjih kontrolah dogovorimo na laboratorijskih sestankih. Glede na število preiskav ki jih opravljamo v LMG UKCMB s področja citogenetike s sodelovanjem v zunanji kontroli pokrivamo vse vrste preiskav pri kariotipizacijah (100%), pri vrednotenju tehnike FISH pa pri 28.6% preiskav. Glede na to, da tehnično FISH predstavlja enako metodologijo povsod, je po naših izkušnjah tovrstno sodelovanje zadostno. Na področju MGL, kjer izvajamo 25 različnih diagnostičnih preiskav, sodelujemo v zunanji kontroli z cca 40% preiskav (10/25).

Genomska diagnostika z metodologijo primerjalna genomska hibridizacija je pod zunanjo kontrolo vsako leto (100%). Enako genomska diagnostika z metodo nove generacije sekvenciranja (100%). Delo s pacientovim biološkim materialom, ravnanje z izvidi, spremljanje urgentnih stanj naših bolnikov, kot tudi raziskovalno delo na pacientovem materialu, zahteva specifično deontološko znanje, ki ga vršimo s spoštovanjem Kodeksa deontologije v laboratorijski medicini.

Zahvala

Avtorica prispevka se zahvaljuje kolektivu Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor, ki so kakorkoli pripomogli k uspešnemu delu, katerega rezultat je objava pričujočega prispevka.

Literatura

- Dequeker, D. (2017). *Molecular Diagnostics* (Third Edition), Chapter 29: Quality Assurance in Genetic laboratories: p.493-500; Pridobljeno s <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802971-8.00029-8>
- EMQN. (2022). Pridobljeno s <https://www.emqn.org/>
- EuroGenTest. (2011). Pridobljeno s <http://www.eurogentest.org/index.php?id=139>
- Pravilnik o dopolnitvah Pravilnika o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine (Uradni list RS, št. 131/20 z dne 28. 9. 2020)
- Pravilnik o dopolnitvi Pravilnika o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine (Uradni list RS, št. 56/19 z dne 17. 9. 2019)

Pravilnik o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine (Uradni list RS, št. 64/04 z dne 11. 6. 2004)

Pravilnik o spremembah in dopolnitvah Pravilnika o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine (Uradni list RS, št. 1/16 z dne 8. 1. 2016)

Sistem International Accreditation Standards AACI Vers.5.0; TX 8-784-160. Pridobljeno s <https://aacihealthcare.com/news/aaci-copyrighted-its-accreditation-standards-version-5-0/>