

Modulo 5

CONTROLLI INTERNI E ASPETTI CRITICI

Il laboratorio di diagnostica molecolare in anatomia patologica:
Controlli Interni e Aspetti Critici

I Controlli di Qualità Interni

I Controlli di Qualità Interni

Tutti i Servizi di Anatomia Patologica e in particolare i Laboratori di Diagnostica Molecolare dovranno ottenere nel prossimo futuro una Certificazione secondo la norma **ISO 15189**, definita a livello Europeo, che certifica i processi di laboratorio ed integra la ISO9001, ottenuta da gran parte dei Servizi.

Il percorso oltre a prevedere il controllo del processo, è orientato all'outcome, al risultato delle indagini svolte, al loro impatto clinico e alla "soddisfazione del cliente« (→ sia esso il paziente, il clinico che invia l'esame, l'ente esterno con cui si è convenzionati o la stessa Istituzione in cui si opera attraverso vari attori (pazienti, medici, amministrazione), definiti stakeholders).

La qualità del prodotto è frutto della sinergia tra **Good Clinical Practice** (in questo caso rappresentata dalla appropriatezza della richiesta e dalla rappresentatività dei campioni) e la **Good Laboratory Practice** (qualità della nostra attività). Tale sinergia si definisce Good Clinical and Laboratory Practice.

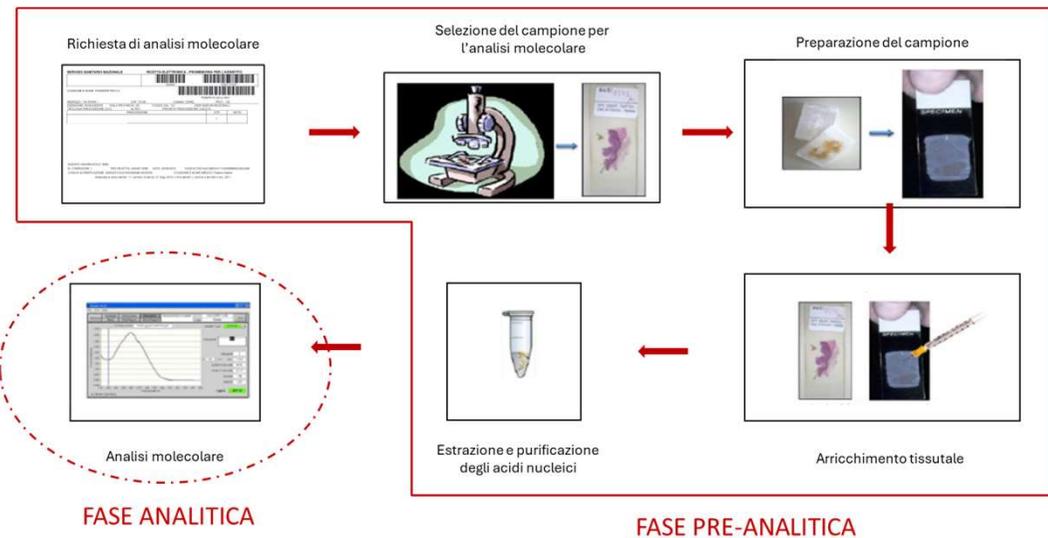
Aspetti Critici

I parametri attraverso i quali essa si attua sono i seguenti:

- a) L'idoneità degli spazi e degli impianti
- b) La corretta gestione dei flussi di lavoro.

La qualità dei campioni bioptici che giungono in Anatomia Patologica, il tempo che impiegano per giungere al Laboratorio di Biologia Molecolare sono parametri fondamentali per il controllo del processo.

→ la Certificazione di un Laboratorio di Biologia Molecolare operante in una Anatomia Patologica non può pertanto prescindere dal controllo del processo dell'Anatomia Patologica stessa.



Aspetti Critici

c) La **formazione del personale**.

Tale processo deve essere allargato a tutti gli operatori in senso globale, prescindendo dalle qualifiche. Tutti partecipano al processo e portano un contributo a prescindere dalla loro figura professionale.

La dinamica tra Patologo - Biologo Molecolare – tecnico di laboratorio è essenziale; lo sforzo di formazione è reciproco e deve tendere a individuare un comune terreno di operatività attraverso un linguaggio condiviso; nello stesso modo la responsabilità è condivisa nel rispetto delle competenze.

Aspetti Critici

d) Devono essere definite le **Procedure Operative Standard (SOPs)**.

Le SOPs sono documenti che descrivono le attività ricorrenti del Laboratorio e che sono rilevanti all'ottenimento della qualità dei referti erogati. Il scopo è quello di svolgere il lavoro correttamente e sempre nello stesso modo. Esse devono essere periodicamente aggiornate in funzione delle scelte operative effettuate e consultate. **Il rispetto delle SOPs è obbligatorio. Le modifiche sono possibili, ma le ragioni che le hanno causate devono essere riportate.**

Le SOPs sono importanti anche per facilitare l'inserimento di nuove figure professionali.

Devono essere fornite le informazioni che riguardano la "Lab Biosafety" comprendendo l'equipaggiamento di protezione, le istruzioni per l'uso di prodotti chimici; devono essere conosciuti i test eseguibili nel Laboratorio, il flusso di lavoro e i processi che lo caratterizzano, le norme riguardanti la manutenzione ordinaria e straordinaria degli strumenti.

Il nuovo personale deve leggere, comprendere e sottoscrivere le SOPs. Successivamente la persona dovrà essere affiancata da un tutor e con lui eseguirà la procedura.

Aspetti Critici

e) Valutazione delle **performances del personale (tecnici, biologi, patologi)**.

Devono essere adottati meccanismi di controllo sulla attività. Queste devono essere definite dal laboratorio

Ad esempio possono essere registrate nel corso del tempo le percentuali delle PCR non andate a buon fine, dei problemi di sequenziamento, delle contaminazioni. Il decremento progressivo delle percentuali corrisponde al miglioramento delle performances d'equipe.

Aspetti Critici

f) La **scelta strumentale**

La scelta degli strumenti **non è parametro standardizzabile**. Essa dipende da diversi fattori:

- dalle risorse disponibili,
- dal numero di test richiesti in un anno,
- dalle diverse tipologie di test erogato dal Laboratorio,
- dal livello di formazione del personale.

La scelta si esegue secondo **criteri competitivi** come ad esempio con l'esame dei risultati ottenuti da un assay in programmi di controlli di qualità esterni, la facilità d'uso dello strumento e l'immediatezza della valutazione dei controlli positivi e negativi, i costi di manutenzione, la produttività (throughput) della piattaforma.

Parametro fondamentale è la "**robustezza**" delle metodiche; questa è definibile come la possibilità di ottenere lo stesso risultato quando lo strumento è usato da personale diverso, ad ore diverse, in condizioni di temperatura e di umidità diverse, sugli stessi campioni. Devono essere considerati i costi (diretti e indiretti) sostenuti per singolo test e i costi dei controlli positivi e negativi.

Aspetti Critici

g) Valutazione della **sensibilità delle metodiche**

Considerati i problemi di eterogeneità è di fondamentale importanza che ogni laboratorio definisca la sua sensibilità analitica con dei reference standards di DNA. Per sensibilità analitica si deve intendere la più bassa concentrazione di cellule tumorali in cui è possibile identificare una mutazione target con il 100% di precisione nei replicati. Considerato il problema della eterozigosi, la minima componente neoplastica presente nella sezione dovrebbe essere quantitativamente doppia rispetto al limite di rilevazione strumentale.

→ Per esempio un campione con il 10% di cellule tumorali dovrebbe essere testato con un assay con limite di rilevazione di almeno il 5%.

Aspetti Critici

h) Validazione o verifiche delle metodiche

Il numero di test da eseguire per validare una metodica, varia in funzione del numero dei casi studiati; il numero è infatti proporzionale al potere statistico nella analisi di validazione (Mattocks CJ et al. Eur J Hum Genet 2010).

Il College of American Pathologists ha riportato che 40 casi sono sufficienti per la validazione di un assay anche non commerciale ; il potere statistico generato da 40 casi corrisponde ad una sensibilità attesa del 92.5%(Kamel-Reid S et al.Arch Pathol Lab Med 2012;136:26–32.). Per raggiungere una sensibilità attesa del 99% occorrerebbe testare 300 casi.

La verifica di un test si applica invece a test commerciali marcati CE-IVD: il laboratorio deve verificare di ottenere con il test in oggetto risultati in linea con le performance dichiarate dal produttore.