



# Moleculaire biologische kwaliteits rondzendingen: Harmonisatie via netwerken

14 juni 2011

Dr. R. Maatman



# Overzicht

- Nationale QCs
- Europese projecten
  - EQUAL
  - Spidia
- Biobanken

# SKML Sectie Moleculaire biologie in de klinische chemie

## ■ Historie

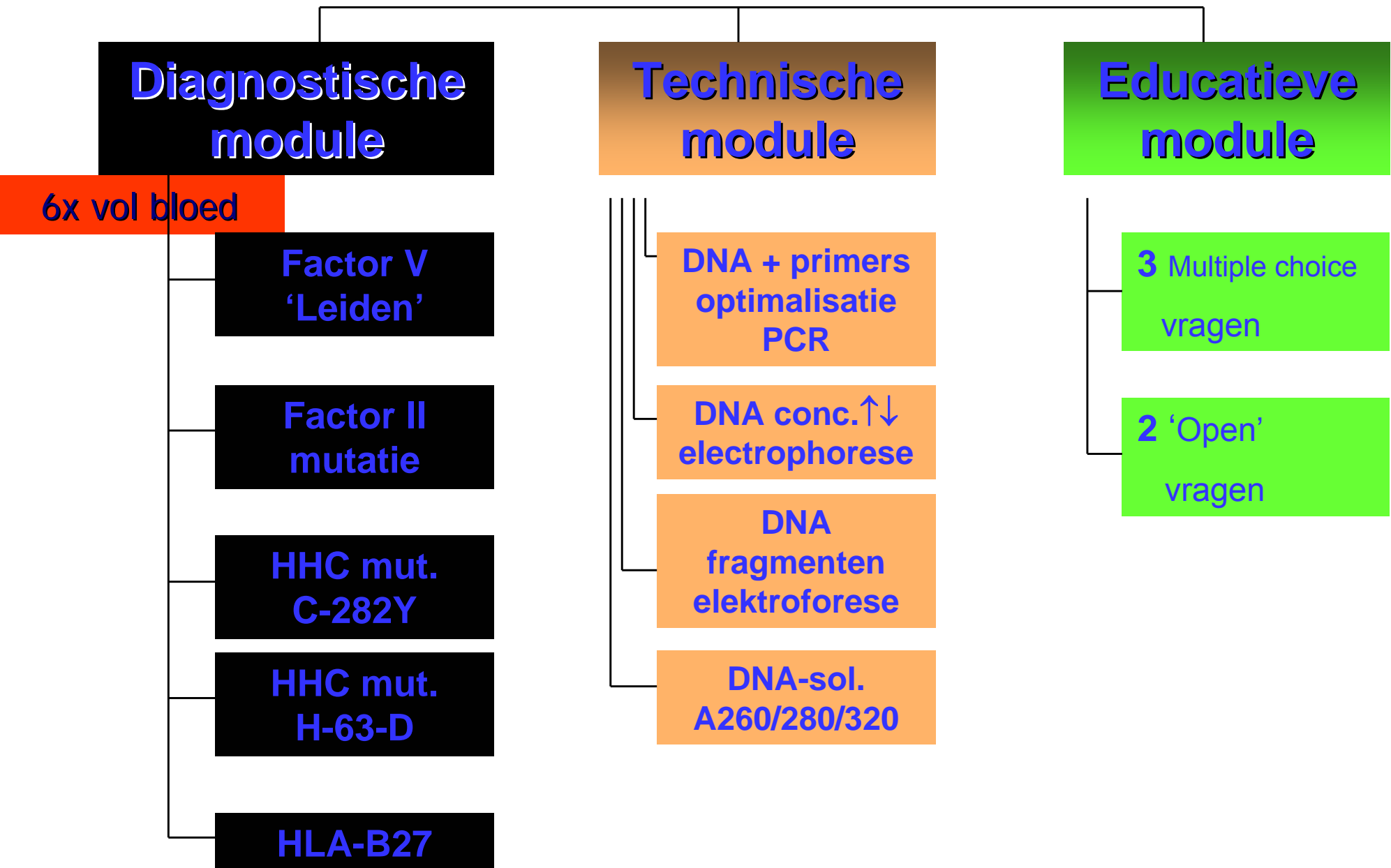
- 1990 Introductie moleculaire diagnostiek lokaal
- 1995 Start Externe QC rondzending
- 2001 Integratie in de SKML
- 2001 tm 2006 volbloed monsters
- 2007- nu DNA monsters

## ■ Commissie Moleculair Biologische Diagnostiek: klankbordgroep

## ■ 2 rondzendingen per jaar

## ■ 2 mondelinge terugkoppelingen via CMBD-themaochtend

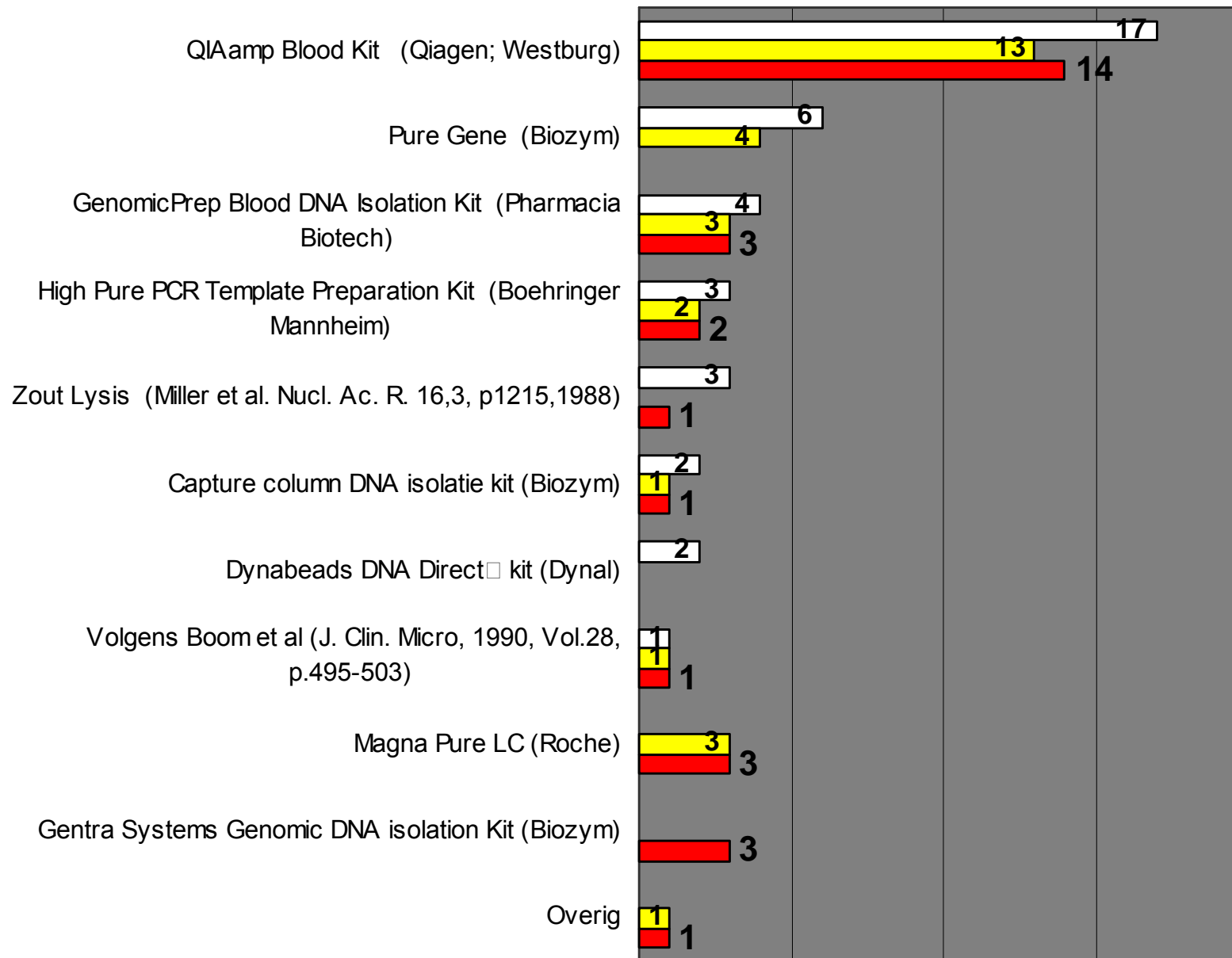
# EQA-Programma (1995/2006)



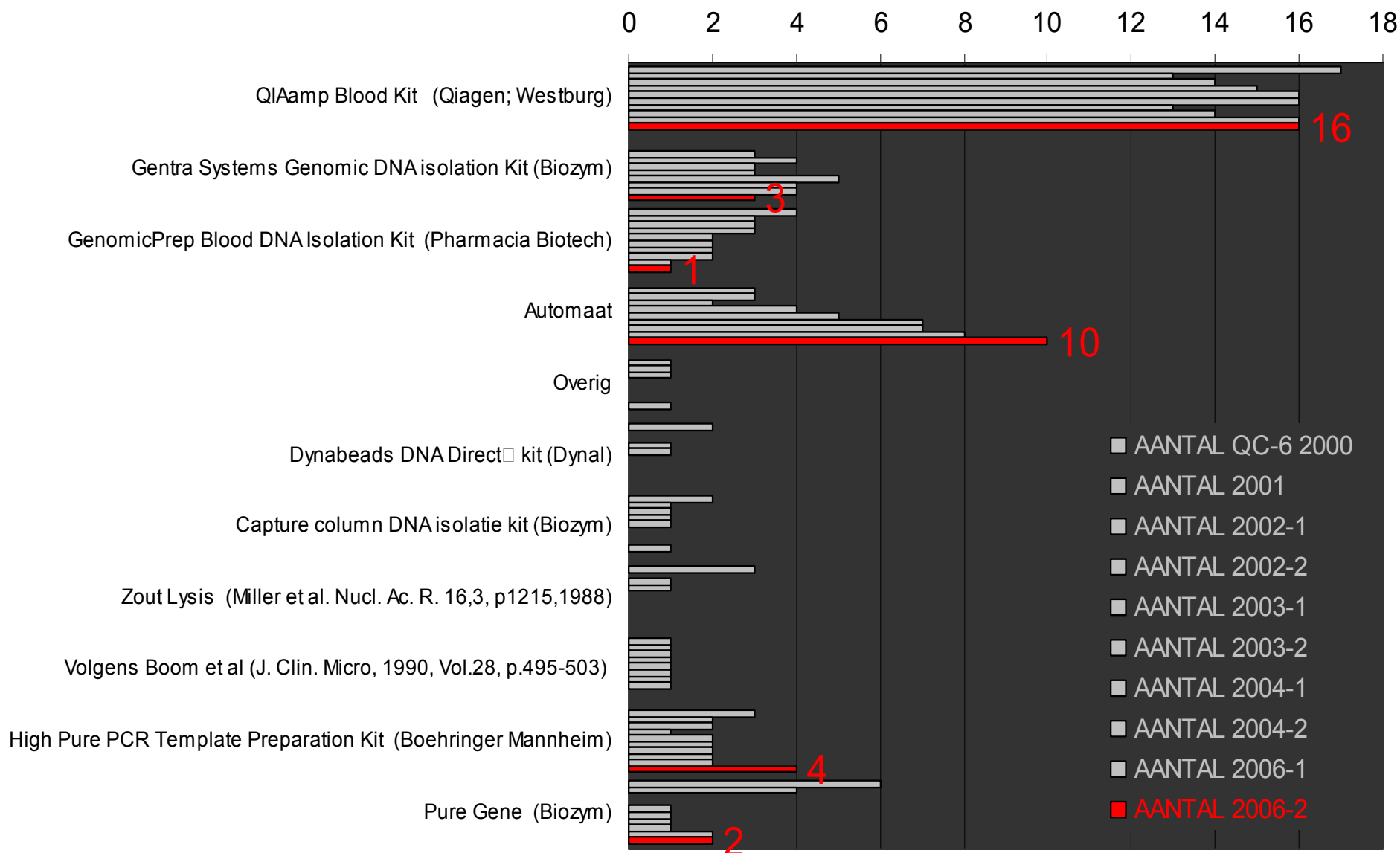
# EQA programma anno 2011

- DNA monsters
- Gebruiker gestuurd
- 3 pakketten:
  - Trombofilie:
    - 39 FVL
    - 39 Fact II
    - 8 MTHFR
  - Farmacogenetica:
    - 13 CYP2D6 en CYP2C19
  - Overige testen:
    - 33 HHC C282Y en HHC H63D
    - 28 HLA-B27
    - 19 alfa-thalassemie
    - 18 Jak-2 mutatie
    - 14 CF delta F508

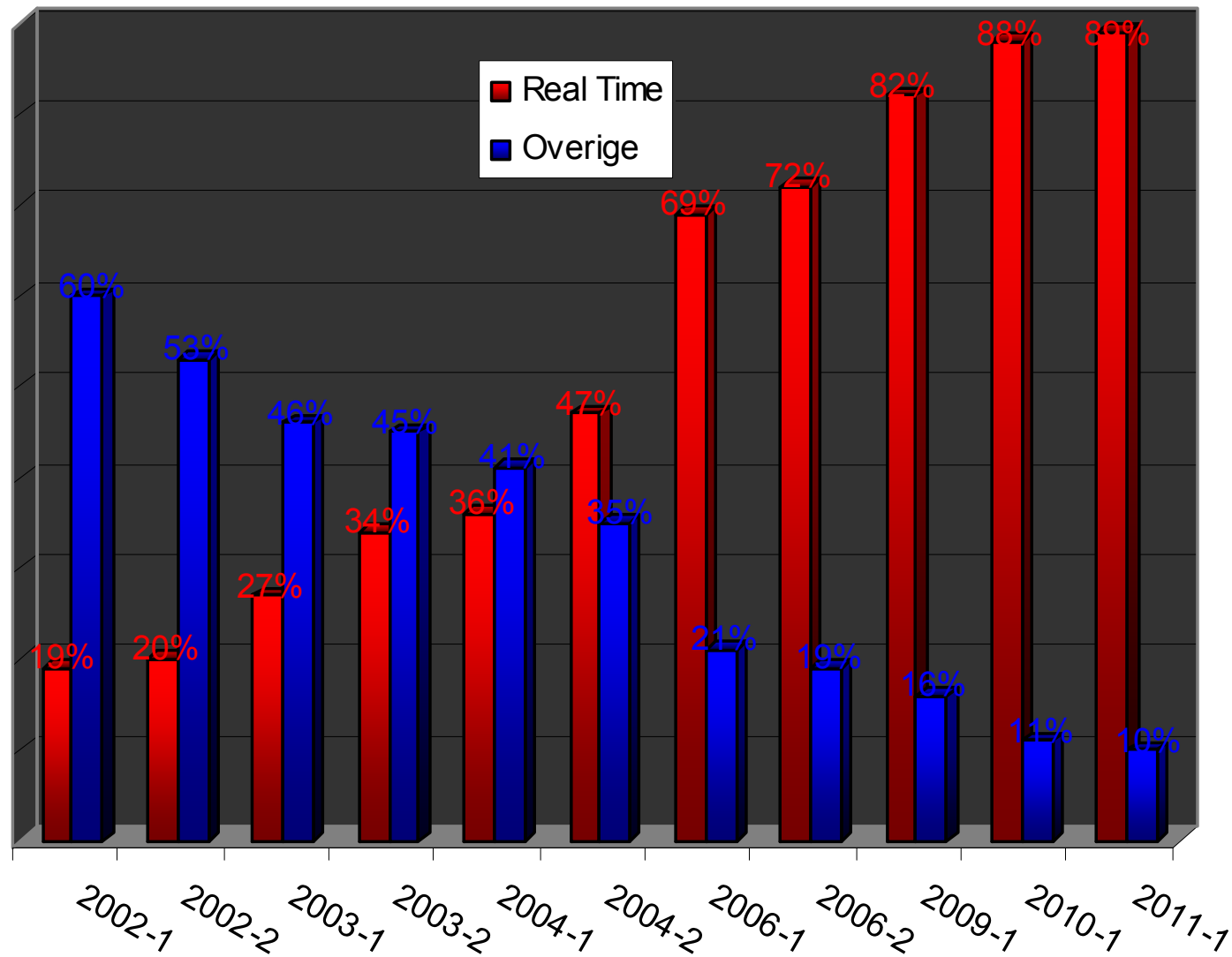
# Methoden DNA isolatie 2002



# Methoden DNA isolatie 2006



# Inventarisatie methoden: Real Time vs overige





# EQA programma Duitsland

## DI DNA-Isolierung

Ringversuch	Letzter Anmeldetermin	Versand der Proben	Versuchszeitraum		Spätester Probeneingang
			von	bis	
DI1/11	07.02.11	16.03.11	21.03.11	09.04.11	22.03.11
DI2/11	01.08.11	07.09.11	12.09.11	01.10.11	13.09.11

€ Preise je Ringversuch inklusive Probenmaterial, Versand, MwSt.

45,00 €  
jedes zusätzliche Probenpaar 25,00 €

### ➤ Untersuchungsmaterial

Vollblut, K-EDTA, 2 Proben mit je 250 µl

### ➤ Angebotener Analyt

DNA-Isolierung und FV-Genotypisierung

### ➤ Hinweis

Methodologischer Ringversuch  
Konzentrationsbestimmung  
Quotient 260/280

Identifikationsnachweis  
ermittelte Genotypen

# EQA programma Duitsland

## FV Molekularbiologie

Ringversuch	Letzter Anmeldetermin	Versand der Proben	Versuchszeitraum von	bis	Spätester Probeneingang
FV1/11	07.02.11	23.03.11	28.03.11	16.04.11	29.03.11
FV2/11	15.08.11	28.09.11	04.10.11	22.10.11	05.10.11

### € Preise je Ringversuch inklusive Probenmaterial, Versand, MwSt.

Material ein Set **43,00 €** weitere Sets 18,00 €

Ihre gewählte Kombination aus Set A, B, C, D, E, F oder G kann auch mehrfach bestellt werden.

#### > Untersuchungsmaterial

DNA-Präparation, lyophilisiert

#### > Angebotene Analyte

- Set A: FV-Leiden, Prothrombin, MTHFR (C677T, A1298C), PAI-I 4g5g
- Set B: FXIII V34L, GPIIIa,  $\beta$ Fib g-455a, VKORC1 (g-1639a/c1173t), FXII c46t, FV H1299R
- Set C: a1 PI, Apo E, Apo B100, ACE, CETP
- Set D: TPMT, Cyp2C19 \*1/\*2/\*17, Cyp2D6, Cyp2C8 (K399R), Cyp2C9 \*2/\*3, UGT1a1 (\*28), DPD Exon 14 skipping, BCHE A/K
- Set E: ALDO B (149/174/334), HFE (H63D, C282Y, S65C), LCT c-13910t, NOD2 (R702W, G908R, L1007fins C)
- Set F: M. Wilson ATP7B-C3207 A, FSAP (Marburg-I), ITGA2 Gplalla C807T
- Set G: K-Ras: Codon 12/13/61

#### > Hinweis

Bitte beachten Sie die Unterteilung in die Sets A, B, C, D, E, F und G unbedingt bei der Bestellung des Ringversuchs.

# Europese projecten

- Veel landen “eigen” QC programma
- Harmonisatie methoden en apparatuur
- Gesubsidieerde EU QC programma's
  - 6th framework: EQUAL
  - 7th framework: SPIDIA

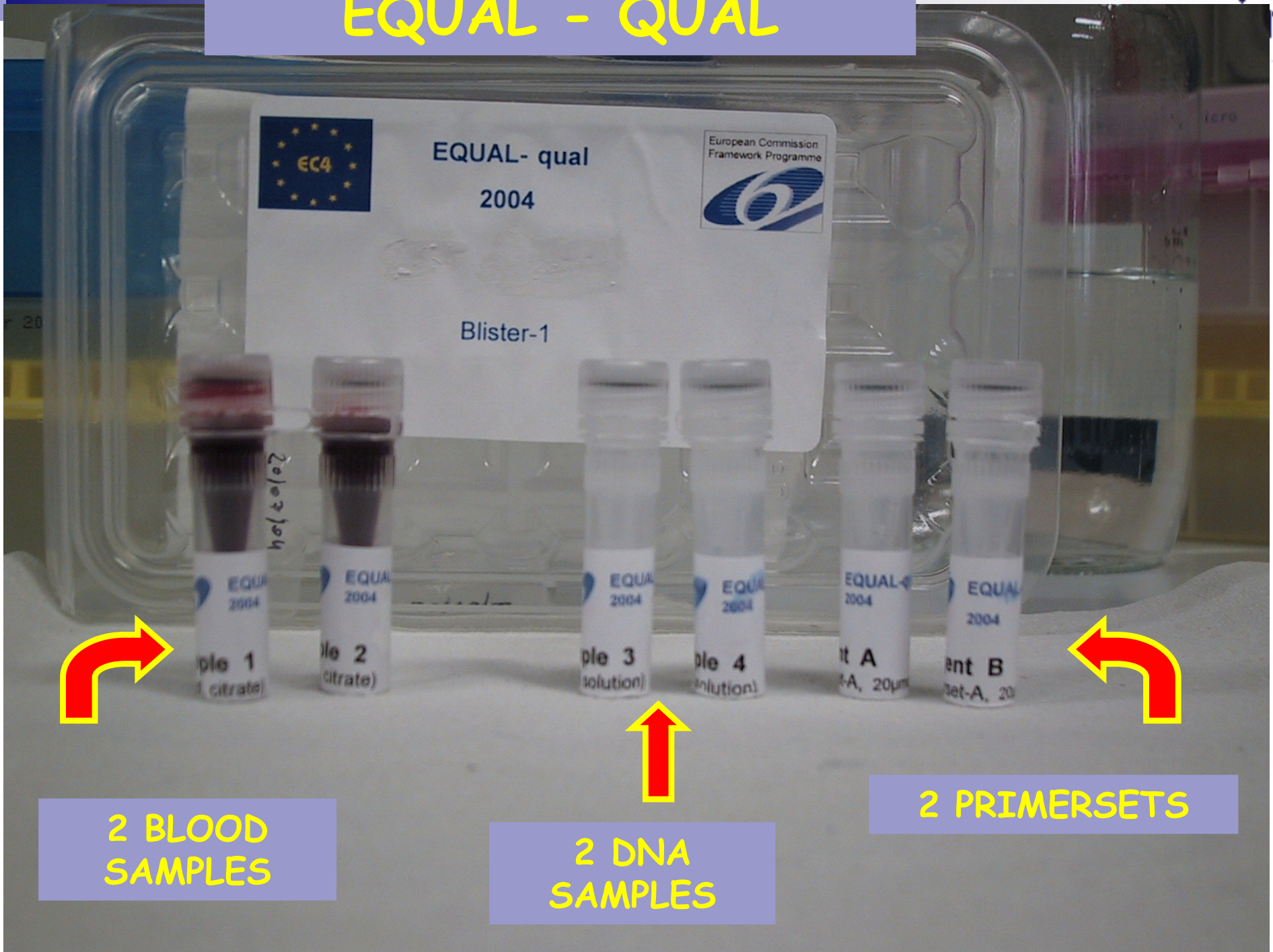
# EQUAL programma

- **EQUAL-qual** t.b.v. monitoring van de kwaliteit van kwalitatieve PCR gebaseerde testen
- **EQUAL-quant** t.b.v. monitoring van de kwaliteit van de 5'-nuclease kwantitatieve PCR gebaseerde testen
- **EQUAL-seq** t.b.v. monitoring van sequence gebaseerde testen

# Participatie

Australia	1
Austria	4
Belgium	10
Canada	7
Croatia	3
Cyprus	1
Czech Republic	13
Denmark	3
Estonia	2
France	12
Germany	14
Greece	4
Hungary	3
Iceland	1
Ireland	4
Italy	79
Latvia	4
Norway	1
Poland	4
Portugal	3
Spain	7
Sweden	2
Switzerland	1
The Netherlands	10
Turkey	2
United Kingdom	18
Grand Total	213

# EQUAL - QUAL



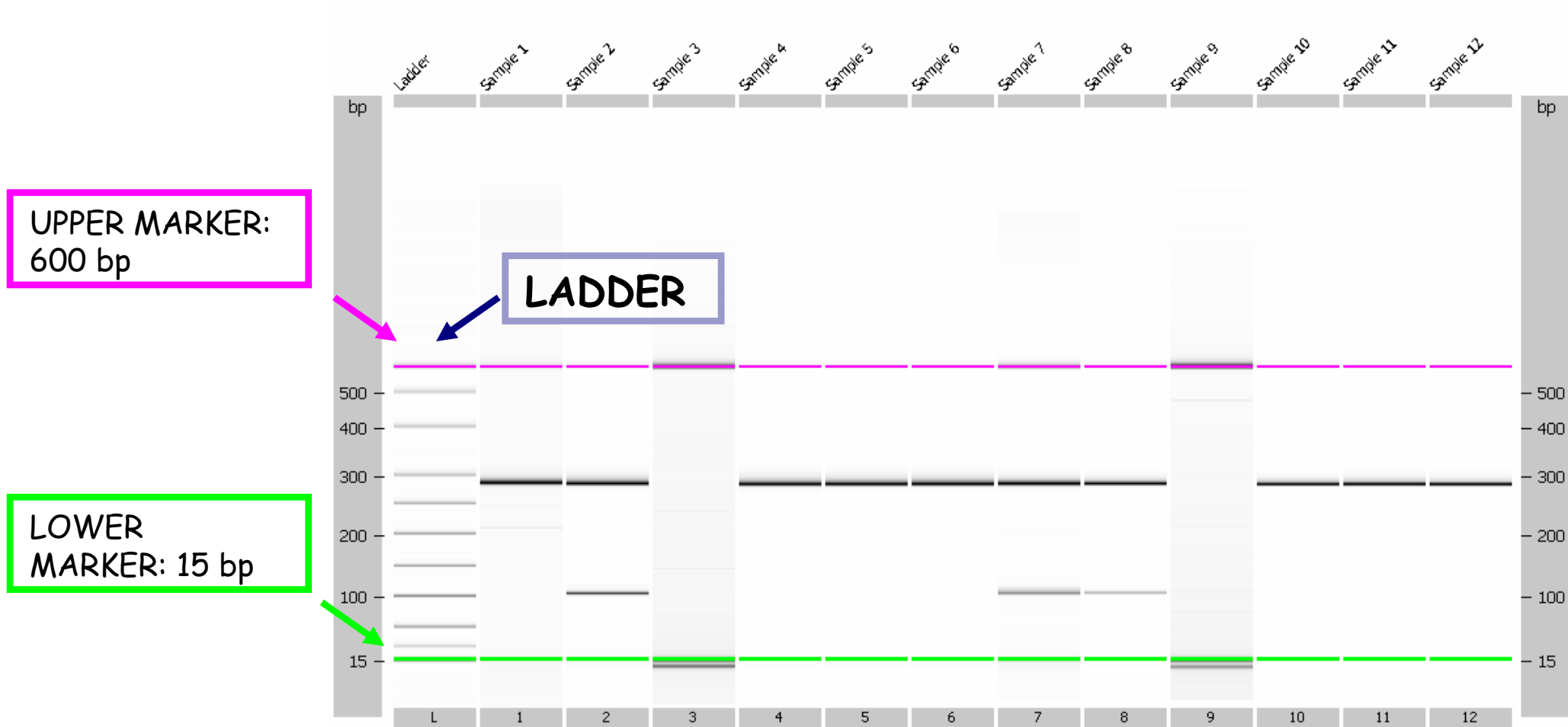
2 BLOOD  
SAMPLES

2 DNA  
SAMPLES

2 PRIMERSETS

# EQUAL/qual programma

- 2 volbloed monsters:
  - DNA isolatie en bepaal OD260/280/320
- 2 DNA monsters
  - Bepaal OD260/280/320
- PCR mbv primers de 4 monsters

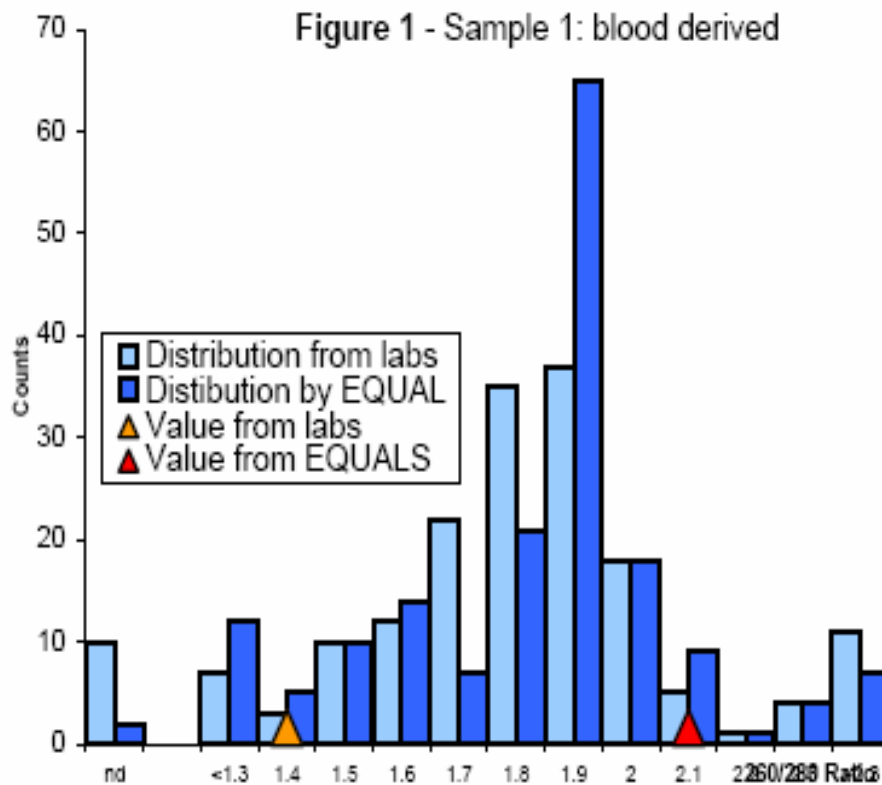




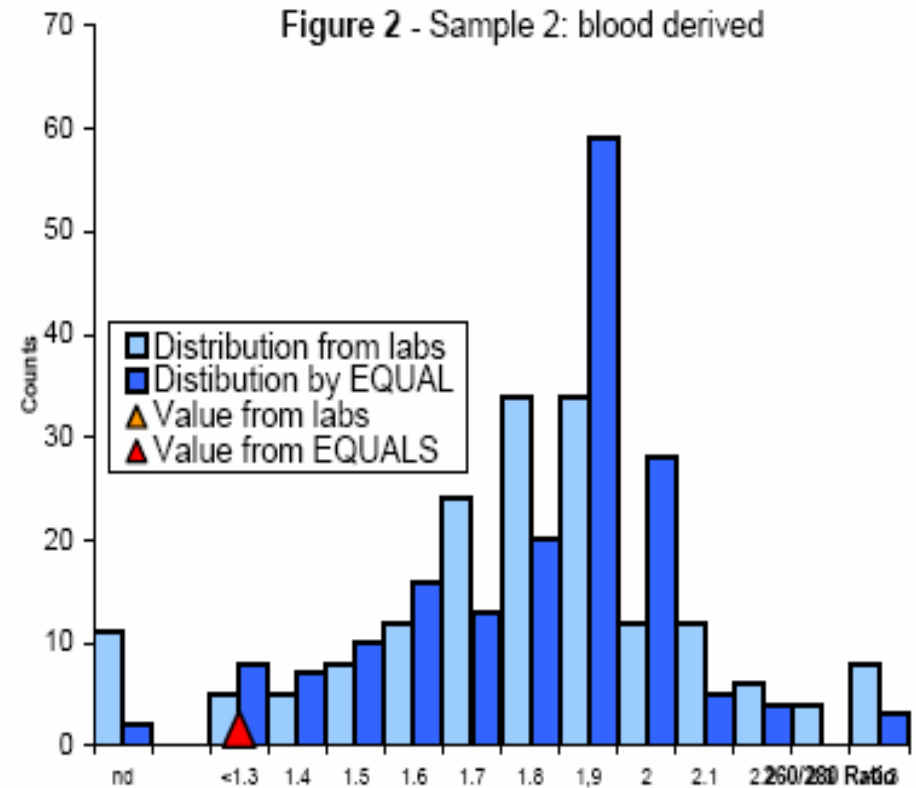
# DNA QUALITY AFTER DNA EXTRACTION IN TWO BLOOD SAMPLES

## A1) DNA quality in blood samples (samples 1 and 2)

Calculated DNA-quality:  $R = (A260 - A320) / (A280 - A320)$



Your result: 1,34  
EQUAL result: 2,00

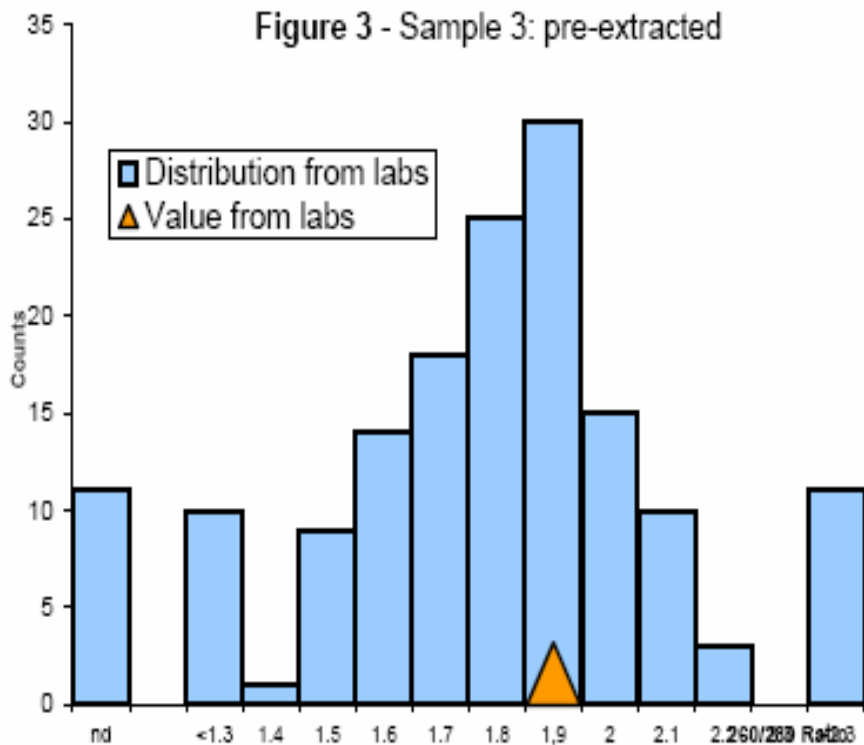


Your result: 0,98  
EQUAL result: 1,00

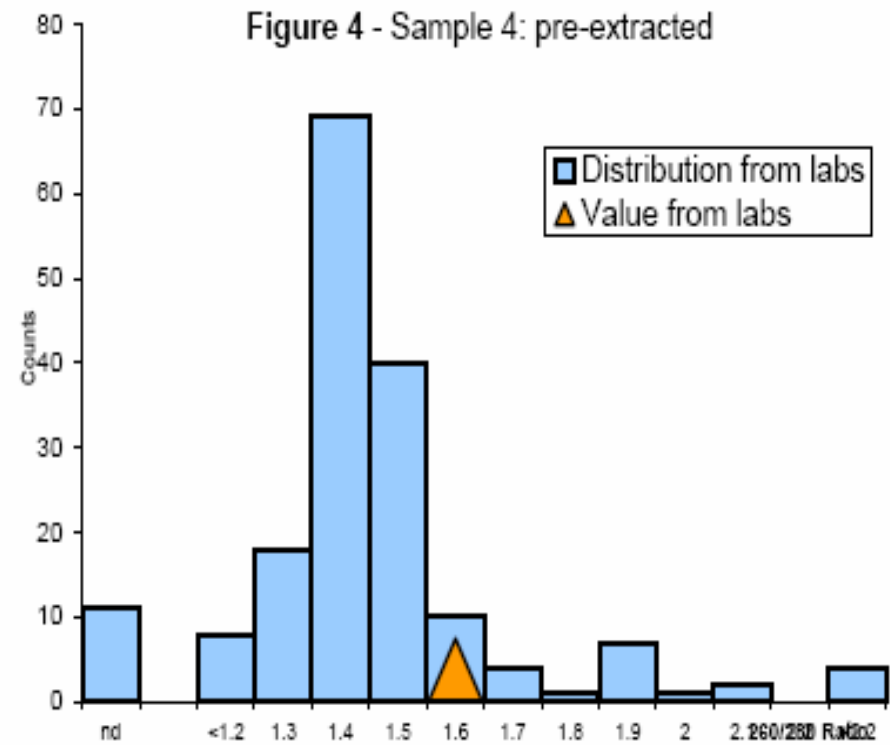
# DNA QUALITY RESULTS: PRE-EXTRACTED DNA SAMPLES

## B1) DNA quality in pre-extracted samples (samples 3 and 4)

Calculated DNA-quality:  $R = (A260 - A320) / (A280 - A320)$



Your result: 1,80  
Target: 1,80

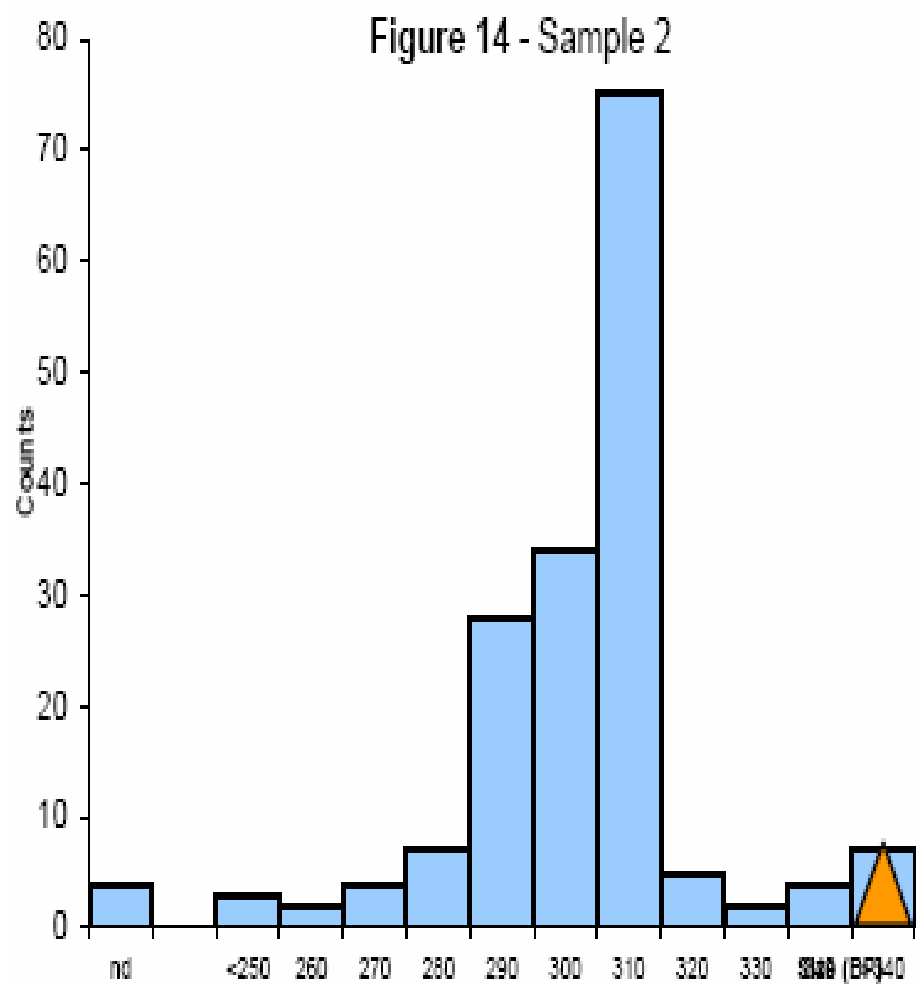


Your result: 1,50  
Target: 1,40

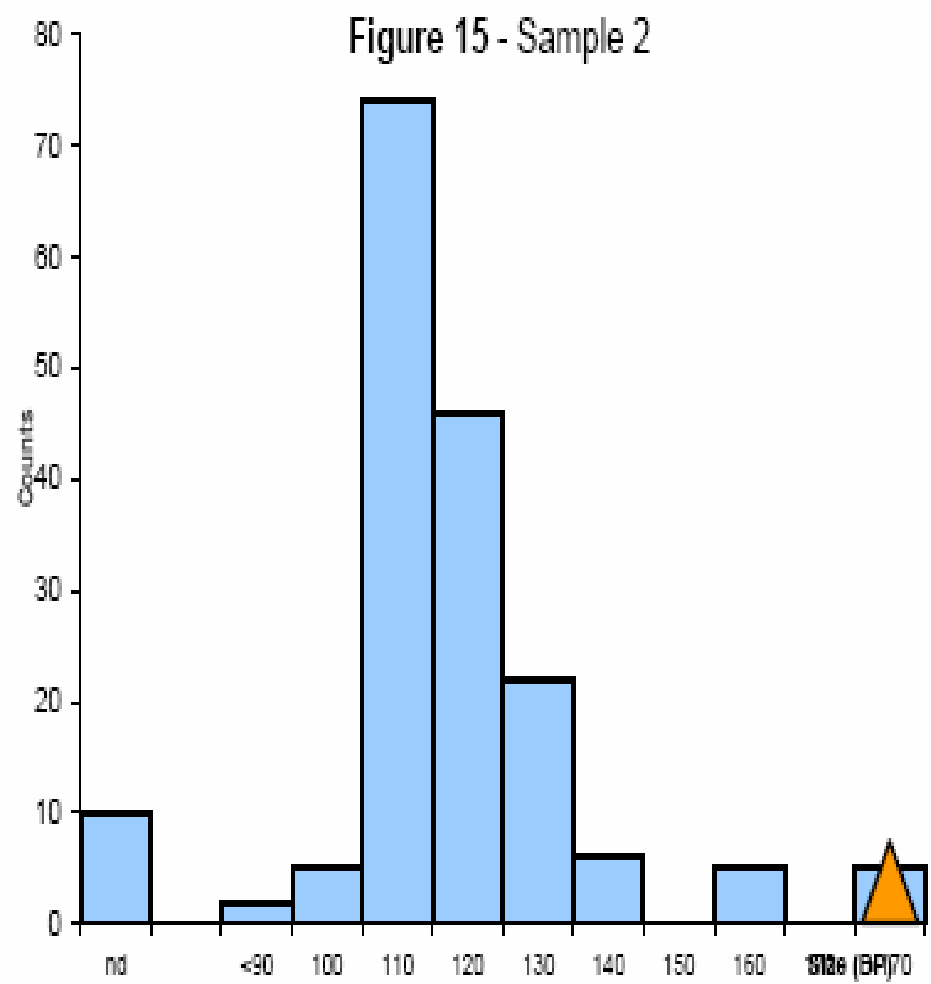
# PCR PRODUCTS: ESTIMATED LENGTH IN BP

Amplification product :

290 bp on chromosome X  
105 bp on chromosome Y



Your result: 555,00



Your result: 476,00

---

# *EQUAL-qual*: A European Program for External Quality Assessment of Genomic DNA Extraction and PCR Amplification

CLAUDIO ORLANDO,<sup>1</sup> PAOLO VERDERIO,<sup>2</sup> RONALD MAATMAN,<sup>3</sup> JAN DANNEBERG,<sup>3</sup>  
SIMON RAMSDEN,<sup>4</sup> MICHAEL NEUMAIER,<sup>5</sup> DOMENICA TARUSCIO,<sup>6</sup> VINCENZO FALBO,<sup>6</sup>  
ROBERT JANSEN,<sup>7</sup> CLAUDIA CASINI-RAGGI,<sup>1</sup> FRANCESCA MALENTACCHI,<sup>1</sup> ETTORE MARUBINI,<sup>8</sup>  
SARA PIZZAMIGLIO,<sup>2</sup> KRIS VERNELEN,<sup>9</sup> JEAN-CLAUDE LIBEER,<sup>9</sup> VLADIMIR PALICKA,<sup>10</sup> and  
MARIO PAZZAGLI<sup>1\*</sup>

---

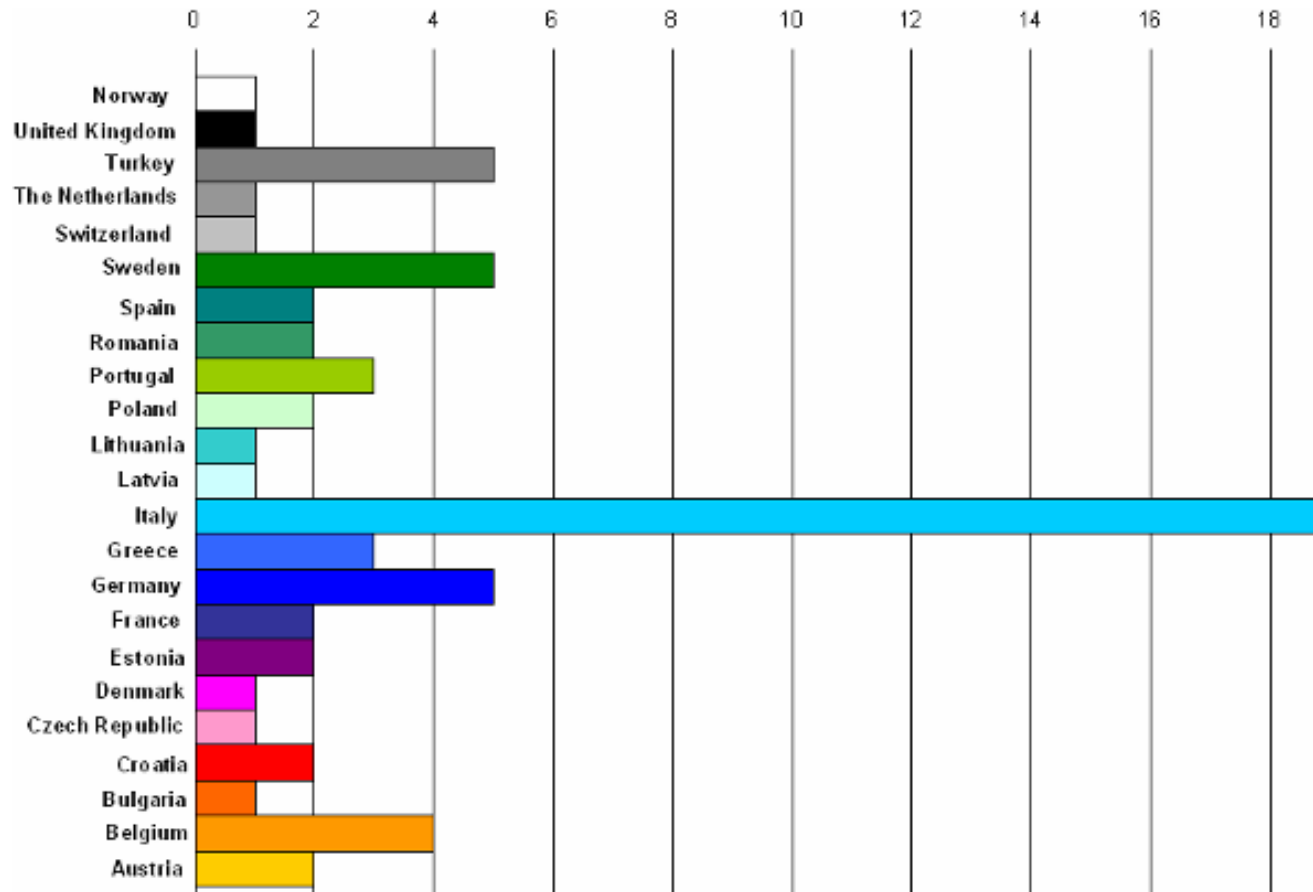
**Conclusions:** The results showed considerable variability in all phases of the experiment. The approach confirms the validity of EQA as a method for evaluating analytical aspects of PCR-based tests.

# SPI DIA programma



- SPI DIA zal bijdragen tot standaardisatie en verbetering van procedures en van middelen voor pre-analytische interventie. Monsters worden op dusdanige wijze behandeld dat ze geschikt zijn voor opslag in biobanken.
- De afzonderlijke stappen als monsterbewerking, stabilisatie en opslag worden gestandaardiseerd.
- SPI DIA beoogt het ontwikkelen en valideren van richtlijnen en middelen ten behoeve van nieuwe kennis en de vertaling ervan op gebied van gezondheidszorg/medische diagnostiek.

# Participatie



# SPIDIA QA programma

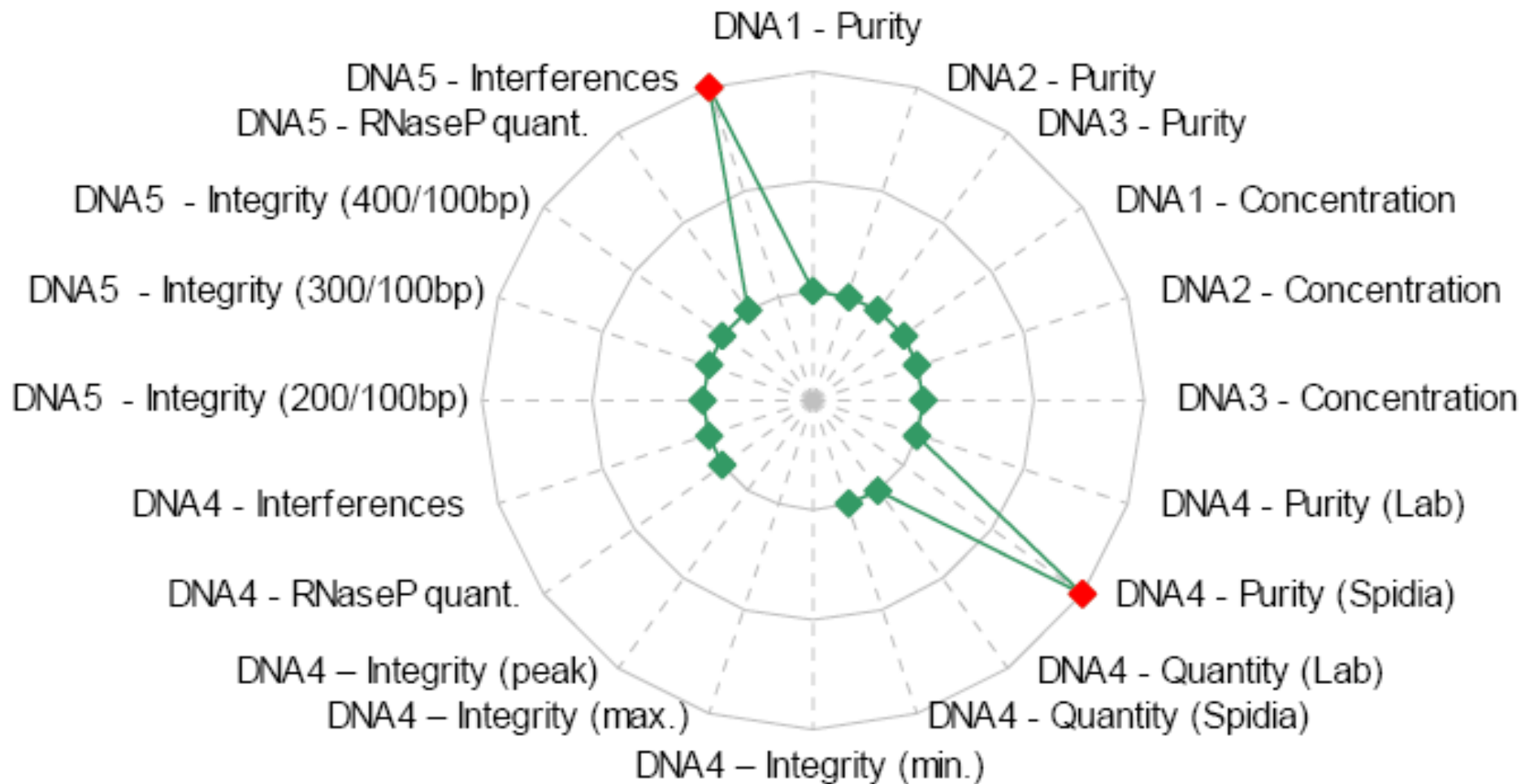
- Enquête (pre)analytisch
- Resultaat formulier

DNA-plas



\* Contains 1.2 mL of a pool human whole/plasma blood, cytrate anticoagulated (HIV-; HBV-;HCV-)

# Resultaat terugkoppeling





# Biobanken

- Biobanken zijn verzamelingen van humaan materiaal o.a. DNA
- Vergroten van genetisch inzicht van ziekten
- Met als ultiem doel persoonsgerichte medische zorg
- Ethische, wettelijke en sociale aspecten

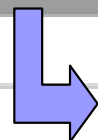
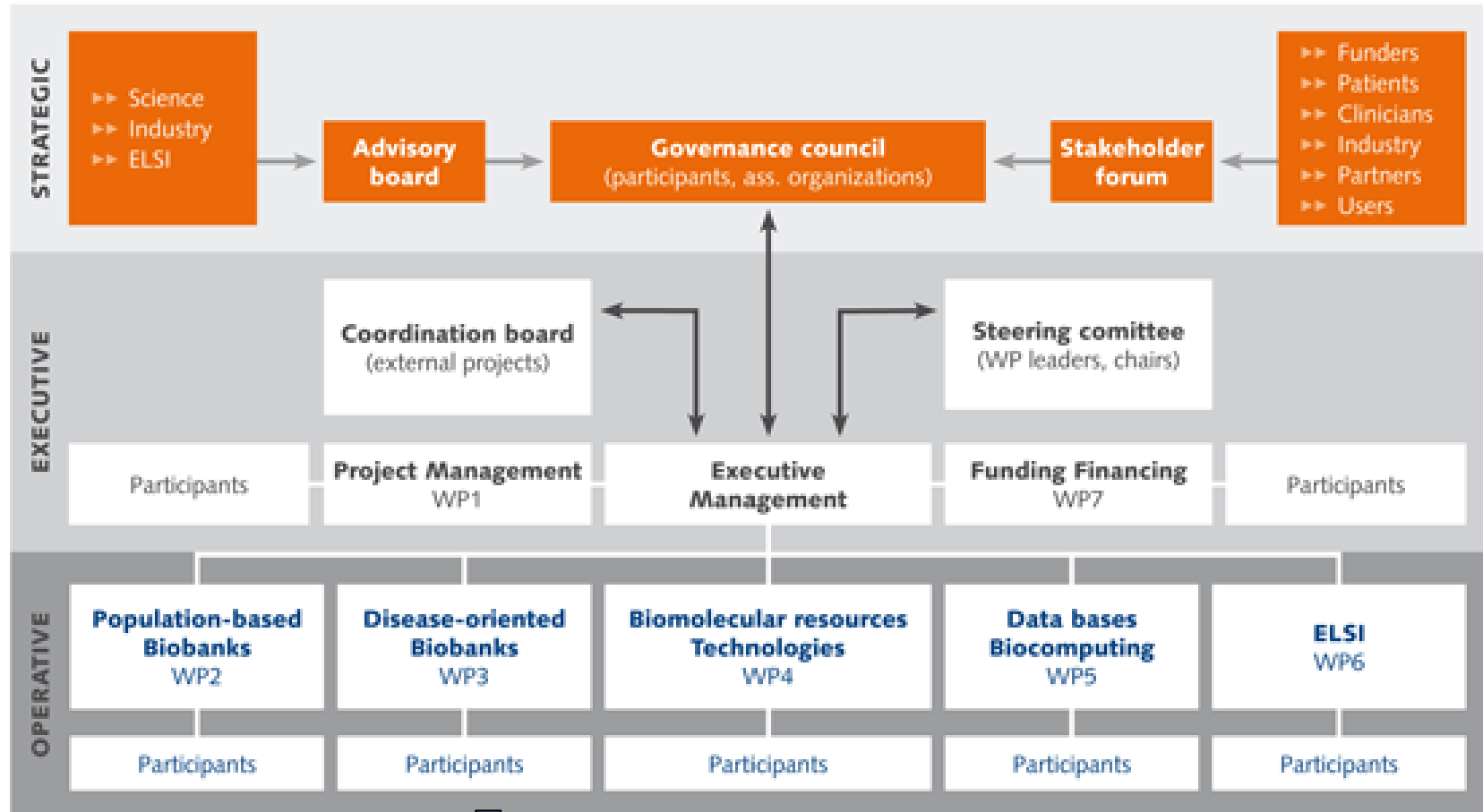
# Missie



- Recent gestart.
- Om de constructie van een pan-Europese “Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure (BBMRI)” voor biomedisch en biologisch onderzoek in Europa en wereldwijd voor te bereiden, gebouwd op bestaande infrastructuren, bronnen en technologieën, specifiek aangevuld met innovatieve componenten en correct ingebed in het Europese ethische, wettelijke en sociale framework.
- Ten gunste van de Europese gezondheidszorg, medisch onderzoek, en, uiteindelijk, de gezondheid van de burgers van de Europese Unie.
- Om een wettelijke en financieel conceptueel framework voor een pan-Europese Biobank infrastructuur te maken.
- Om de wetenschappelijke kwaliteit en voortvarendheid van het Europese onderzoek in gezondheidswetenschappen te laten groeien.
- Om competitiviteit van het Europese onderzoek en bedrijfsleven, met name in de geneeskunde en biologie, te laten groeien en versterken.

# Organization

(prep phase)

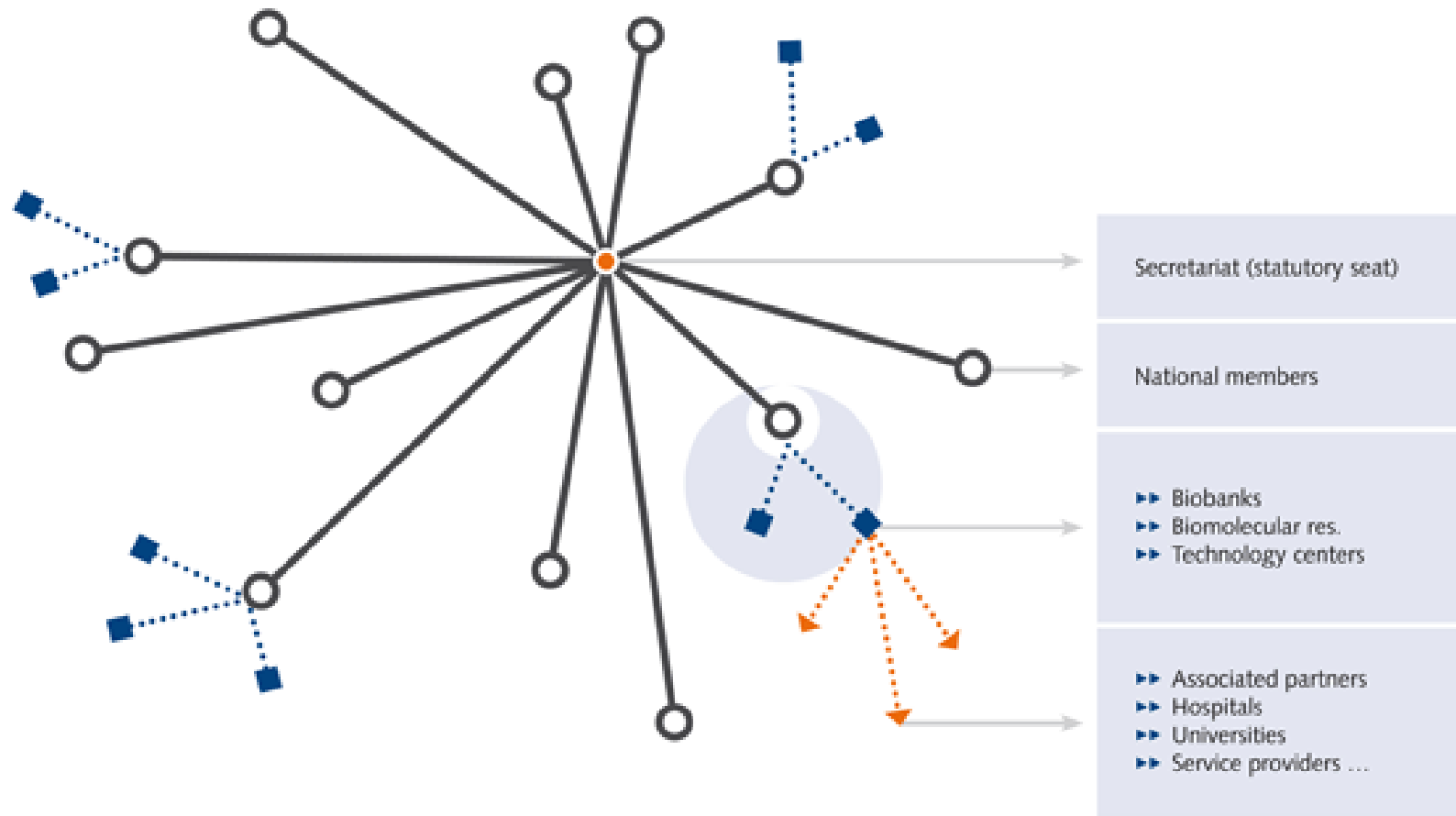


Verbintenis met SPIDIA

# Netwerk

## The Legal Structure of BBMRI (ERI)

The Distributed Hub and Spoke Structure



# Conclusie/Discussie

- Nationale QC organen zorgen voor test specifieke EQA's en bevorderen harmonisatie
  
- Europese projecten als Equal en Spidia dragen bij/hebben bijgedragen aan:
  - Standaardisatie en harmonisatie van methoden
  - Kennis vergroten (pre)analytisch
  - Richtlijn ontwikkeling
  - Geschiktheid van humaan materiaal t.b.v. biobanken

# Conclusie/Discussie

- Door de toekomstige netwerken kunnen Europese laboratoria vrijelijk beschikken over biobank materiaal.
- Biobanken spelen in de toekomst een belangrijke rol o.a. voor laboratoria voor o.a. de validatie, implementatie en harmonisatie van diagnostische testen.