

PRILOGA 3**Program specializacije****1. Teoretična znanja****1.1. Splošna znanja**

Specializant v času specializacije pridobi splošno znanje iz genetike, ki vključuje področja molekularne genetike, citogenetike, populacijske genetike, genetike raka, poligenskih bolezni in klinične genetike.

- 1.1.1. Molekularne osnove dedovanja (struktura in funkcija DNA, struktura in funkcija genoma človeka)
- 1.1.2. Osnovno znanje klinične terminologije, epidemiologije in statistike
- 1.1.3. Osnove celične biologije (struktura in funkcija kromosomov, DNA replikacija, mejoza, mitotična delitev)
- 1.1.4. Struktura gena, izražanje genov in osnove biologije proteinov (DNA, gen, genetski kod, transkripcija, translacija, regulacija genov, struktura proteinov)
- 1.1.5. Genomika in osnove evolucije
- 1.1.6. Narava in frekvenca genetskih bolezni (kromosomske, monogenske, multifaktorske, mitohondrijske)
- 1.1.7. Mendlovo dedovanje (avtosomno, na kromosom X-vezano, recesivno, dominantno, penetrance in izražanja)
- 1.1.8. Ne-klasične oblike dedovanja (psevdo-avtosomno, multifaktorsko, mitohondrijsko, imprinting, uniparentalna disomija, mozaicizem)
- 1.1.9. Identifikacija in karakterizacija okvarjenih genov in strukturnih genomskih variacij (kromosomske aberacije)
- 1.1.10. Poznavanje tehnologij DNA
- 1.1.11. Klinični pomen dednih in pridobljenih nepravilnosti
- 1.1.12. Molekularna patologija (različni primeri)
- 1.1.13. Genetsko testiranje
- 1.1.14. Populacijska genetika
- 1.1.15. Analiza vezave
- 1.1.16. Poglobljeno znanje o genomskih variacijah pri različnih področjih medicinske genetike (nevrogenetika, kardiogenetika, genetika metabolnih bolezni, biokemijska genetika, reprodukcijska genetika, forenzična genetika, onkogenetika solidnih tumorjev, hematološka genetika in druga področja medicinske genetike)
- 1.1.17. Osnove bioinformatike
- 1.1.18. Osnove dobre laboratorijske prakse (poznavanje pravilnika, ki določa pogoje, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine)

Usposabljanje poteka na način samostojnega izobraževanja, učnih delavnic, tečajev, seminarskega dela in predavanj v okviru podiplomskega študija.

1.2. Medicinska genetika

Specializant pridobi osnove medicinske genetike, ki vključuje poznavanje različnih oblik genetske predispozicije in pomen diagnostike pri preprečevanju genetskih bolezni v okviru etičnih normativov.

- 1.2.1. Sestava in pomen družinskega drevesa
- 1.2.2. Osnove klinične genetike:
 - a) genetsko svetovanje
 - b) klinične slike pogostejših sindromov
 - c) pristop k dismorfološki diagnostiki
- 1.2.3. Preprečevanje genetskih bolezni:
 - a) prenatalna diagnostika: pristopi za odvzem vzorca, omejitve oziroma prednosti posameznih pristopov, predimplantacijska diagnostika (PGD)
 - b) presimptomatska diagnostika
 - c) presejalni testi
- 1.2.4. Etična vprašanja

Usposabljanje poteka na način učnih delavnic, samostojnega usposabljanja, seminarjev, predavanj v okviru podiplomskega študija.

1.3. Specialna znanja iz medicinske genetike

V okviru specialnih znanj specializant pridobi in osvoji teoretično znanje o vplivu genetskih nepravilnosti na genotip in fenotip, pridobi osnove onkogenetike ter spozna različne pristope in metode genetskega testiranja.

- 1.3.1. Evolucija humanih kromosomov
- 1.3.2. Mehanizem nastanka kromosomskih nepravilnosti
- 1.3.3. Normalna kromosomska variabilnost
- 1.3.4. Numerične in strukturne nepravilnosti spolnih kromosomov in avtosomov
- 1.3.5. Uniparentalna disomija (UPD)
- 1.3.6. Strukturne kromosomske nepravilnosti, ugotovljene prenatalno ali postnatalno:
 - a) mikrolecije
 - b) markerji
 - c) strukturne preureditve
 - č) kromosomska nestabilnost
 - d) mozaicizem
- 1.3.7. Posledice kromosomskih nepravilnosti za plodnost, razvoj in morfogenezo
- 1.3.8. Ocena tveganja za kromosomske nepravilnosti
- 1.3.9. Prenatalna diagnostika kromosomskih nepravilnosti:
 - a) indikacije
 - b) posebnosti pristopov odvzema tkiva glede na citogenetsko preiskavo
 - c) diagnostične metode (kariotip, hitro testiranje za aneuploidije-analiza FISH)
 - č) pristopi pri nepričakovanih rezultatih (mozaicizem, strukturne kromosomske nepravilnosti, kdaj testirati uniparentalno disomijo-UPD)
 - d) predimplantacijska diagnostika (PGD)
- 1.3.10. Citogenetika spermijev in oocitov
- 1.3.11. Celične kulture in njihova obdelava
- 1.3.12. Molekularna kariotipizacija (aCGH, SNP mikromreže)
- 1.3.13. Mutacije
 - a) Vrste: točkovne, delecije, duplikacije, insercije, premutacije, ekspanzijske mutacije
 - b) Posledice: izguba funkcije, pridobitev funkcije
- 1.3.14. Genetska variabilnost:
 - a) Vrste genetskih polimorfizmov: RFLP, minisatelitni, mikrosatelitni
 - b) Vpliv genetske variabilnosti na fenotip
- 1.3.15. Onkogenetika:
 - a) Osnovna načela in mehanizmi kancerogeneze
 - b) Vrste genov, vključenih v kancerogenezo
 - c) Genomska nestabilnost
 - č) Kromosomske in genetske nepravilnosti pri raku
 - d) ponavljajoče se kromosomske spremembe
 - e) breme in vzorci mutacij v tumorju
 - f) klasifikacija malignih bolezni na osnovi genetskih nepravilnosti
 - g) interpretacija dednih in somatskih sprememb v onkologiji
 - h) pomen genetskih preiskav za diagnozo, oceno prognoze, izbiro in spremljanje zdravljenja
- 1.3.16. Farmakogenetika in epigenetski mehanizmi
- 1.3.17. Pristopi k DNA testiranju:
 - a) Neposredna analiza mutacij
 - b) posredna analiza genetske vezave
- 1.3.18. Metode:
 - a) Splošne: PCR, Southern blot, Northern blot, Sanger sekvenciranje, fragmentna analiza, DNA-mikromreže (SNP mikromreže)
 - b) Metode za ugotavljanje mutacij: SSCP, DDGE, DHPLC, analiza heterologne DNA, TaqMan tehnologija, MLPA, HRM tehnologija
 - c) Sekvenciranje naslednje generacije (NGS), sekvenciranje eksoma/genoma
 - č) Nove tehnologije
- 1.3.19. Gensko zdravljenje

Usposabljanje poteka na način učnih delavnic, tečajev, samostojnega usposabljanja in seminarskega dela.

2. Praktična znanja

Specializant med usposabljanjem osvoji metode in tehnike, potrebne za genetsko diagnostiko in raziskovalno delo v genetskem laboratoriju. Seznani se s področjem dela in kompetencami laboratorijskih tehnikov v genetskem laboratoriju. Osvoji pravila nadzora kakovosti in se usposobi za delo z laboratorijskimi in kliničnimi informacijskimi sistemi. Rezultat, ki ga doseže, zna predstaviti, analizirati in komentirati.

Specializant se v času specializacije spozna in osvoji osnove laboratorijskih znanj in postopkov Kandidat spozna, razume in osvoji osnove tehnik iz točke 2.2. te Priloge, spozna postopke optimizacije posameznih tehnik in zna poiskati ter odstraniti tehnične motnje, ki se pojavijo pri praktičnem delu.

Specializant se med specializacijo seznani in osvoji tudi splošna znanja iz laboratorijskega dela:

- predpise o varnosti v laboratoriju in ukrepe ob nezgodah (ogelj, zastrupitve, kontaminacije, druge laboratorijske nesreče),
- delo s kemikalijami, mutagenimi in karcinogenimi substancami, infekcijskim materialom, samozaščito pri delu,
- poznavanje in preprečevanje kontaminacije pri izvedbi analiz.

2.1. Poznavanje metod uporabe računalniških baz podatkov

Specializant se seznani z informacijskimi sistemi in bazami podatkov, ki se uporabljajo v genetskih laboratorijih.

Med usposabljanjem se specializant seznani z uporabo baz podatkov strokovne literature (npr. Medline), z uporabo baz podatkov o genetskih boleznih, oligonukleotidnih označevalcih, nukleotidnem zaporedju (npr. OMIM, genome database, BLAST). Za namen razumevanja in interpretacije rezultatov analiz različnih genomskih tehnologij se seznani z bazami podatkov DECIPHER, ClinGen, ClinVar, HGMD, LOVD, COSMIC in primerljivimi. Razume pomen orodij za napoved patogenosti odkritih sprememb (npr. SIFT, PhenoPred, MutationTaster), pozna baze fenotipske ontologije (Human Phenotype Ontology) in funkcijske oznake genov (GeneOntology, KEGG, UniProtKB). Prav tako se seznani z bazami podatkov, ki različice povezujejo s kliničnim pomenom na področju onkogenetike (npr. OncoKB) in spozna baze podatkov populacijske genetske variabilnosti v humanem genomu (npr. HapMap, dbSNP, ESP, gnomAD).

Specializant se usposobi za uporabo programa za risanje družinskih dreves in programa za statistično vrednotenje rezultatov.

2.2. Tehnike

Če se določene tehnike opuščajo, je dovolj le seznanitev s teoretično osnovo testa.

2.2.1. Citogenetske in molekularno-citogenetske tehnike

2.2.1.1. Celične kulture

- a) izbira in priprava medija za celične kulture
- b) izdelava rutinske celične kulture in preparacija kromosomskih tehnik iz limfocitov, kostnega mozga, solidnih tumorjev, amniocitov, horionskih resic, fibroblastov kože

2.2.1.2. Izdelava citogenetskih preparatov

- a) Izdelava metafaznih in interfaznih preparatov iz kratkotrajnih celičnih kultur
- b) Izdelava metafaznih in interfaznih preparatov iz različnih celičnih kultur (odprti in zaprti sistemi gojenja)

2.2.1.3. Barvanje kromosomov za svetlobno mikroskopijo

- a) izdelava rutinskih tehnik barvanja b) visoko resolucijske tehnike
- 2.2.1.4. Citogenetski pristop k analizi kromosomske nestabilnosti
- 2.2.1.5. Fluorescentna *in situ* hibridizacija (FISH)
 - a) Izdelava postopka FISH na metafaznih kromosomih in interfaznih jedrih
- 2.2.1.6. Molekularna kariotipizacija (aCGH, SNP mikromreže)
- 2.2.2. Molekularno-genetske tehnike
- 2.2.2.1. Izolacija genomske DNA iz:
 - a) celic venske krvi in kostnega mozga
 - b) celičnih kultur
 - c) horionskih resic
 - č) tkiv, vklopljenih v parafin
 - d) drugih tkiv in materialov
- 2.2.2.2. Izolacija RNA iz:
 - a) celic venske krvi in kostnega mozga
 - b) tkiva
- 2.2.2.3. Določanje kvantitete in kvalitete vzorca DNA in RNA
- 2.2.2.4. Pridobivanje, izolacija in čiščenje plazmidne DNA ter priprava insertov
- 2.2.2.5. Priprava in elektroforeza agaroznih gelov
- 2.2.2.6. Priprava in elektroforeza akrilamidnih gelov:
 - a) za DNA/RNA
 - b) za proteine (npr. Protin Truncation Test: PTT)
- 2.2.2.7. Barvanje gelov
- 2.2.2.8. Delovanje in vzdrževanje laboratorijske opreme
- 2.2.2.9. Izvedba in poznavanje osnov metode Southern blot
- 2.2.2.10. Izvedba in poznavanje osnov hibridizacije, označevanja sond in neradioaktivne detekcije
- 2.2.2.11. Izvedba in poznavanje osnov metode verižne reakcije s polimerazo (PCR):
 - a) osnovni PCR
 - b) multipleks PCR
 - c) RT PCR
 - č) MLPA
 - d) QF-PCR
 - e) ostale metode PCR (navesti)
- 2.2.2.12. Izbor začetnih oligonukleotidov za metodo PCR
- 2.2.2.13. Izvedba encimske cepitve
- 2.2.2.14. Izvedba analize mikrosatelitov s:
 - a) srebrenjem
 - b) fluorescenčnim označevanjem
- 2.2.2.15. Razumevanje in izvedba analize mutacij pri:
 - a) alelnu specifičnem PCR
 - b) alelnu specifični hibridizaciji oligonukleotida
 - c) analizi heteroduplexov
 - č) ločevanju alelov s TaqMan tehnologijo
 - d) ugotavljanju točkastih mutacij z encimsko cepitvijo in TaqMan tehnologijo
 - e) MLPA (od ligacije odvisno hkratno pomnoževanje sond)
 - f) ostale metode.
- 2.2.2.16. Analiza sekvence DNA
- 2.2.2.17. Kvantitativna analiza DNA s TaqMan tehnologijo
- 2.2.2.18. Poznavanje prihajajočih tehnologij
- 2.2.2.19. Iskanje mutacij v kandidatnih genih
 - a) Pomnoževanje DNA/RNA bolnikov s PCR
 - b) Odkrivanje mutacij z denaturacijsko visoko-ločljivostno tekočinsko kromatografijo (DHPLC)
 - c) Odkrivanje mutacij s kapilarno elektroforezno-SSCP metodo
 - č) Ciklično sekvenciranje

(2) Usposabljanje poteka na način: praktičnega dela v citogenetskem, molekularno-citogenetskem in molekularno-genetskem laboratoriju (minimalni obseg laboratorijskih preiskav, določenih v točkah 5.6., 5.7. in 5.8. te Priloge)

2.3. Diagnostika

2.3.1. Citogenetska in molekularno-citogenetska diagnostika

Specializant med usposabljanjem pridobi naslednja znanja:

- zagotavljanje in nadzor kakovosti v citogenetski in molekularno-citogenetski diagnostiki,
- izbor in izvedba citogenetskih tehnik glede na indikacijo pri določenem kliničnem problemu,
- izbor in izvedba FISH pristopa glede na indikacijo pri določenem kliničnem problemu,
- izbor in izvedba molekularne kariotipizacije pri določenem kliničnem problemu,
- mikroskopiranje s svetlobnim in fluorescentnim mikroskopom,
- analiza kromosomov, kariotipizacija, dokumentacija: ocena kakovosti kromosomskih preparatov,
- izdelava računalniškega kariotipa,
- molekularno-citogenetska diagnostika interfaznih jeder,
- ISCN nomenklatura,
- ugotovi, ali je potrebna nadaljnja obdelava primera oziroma uporaba dodatnih citogenetskih/molekularno - genetskih tehnik,
- priprava pisnega poročila (izvid).

2.3.2. Molekularno-genetska diagnostika

Specializant med usposabljanjem pridobi naslednja znanja:

- zagotovitev in nadzor kakovosti v molekularno-genetski diagnostiki,
- izbor in izvedba molekularno-genetske analize ali kombinacije analiz, ki so najprimernejše za odkrivanje mutacij pri določenem kliničnem problemu,
- genetsko testiranje v prenatalni diagnostiki,
- genetsko testiranje pri boleznih v odrasli dobi – presimptomatska diagnostika,
- ključne genetske preiskave v onkogenetiki
- priprava pisnega poročila (izvid).

2.3.3. Interpretacija rezultatov

Med usposabljanjem specializant od mentorja prevzema vedno večjo odgovornost za uspešnost izvedbe analize, interpretacijo analize ter podajanje rezultata v obliki izvida (ekspertize). Zna poiskati dodatne vire informacij iz ustreznih baz podatkov.

Ob koncu usposabljanja ima specializant opravljen minimalen obseg laboratorijskih preiskav in posebnih laboratorijskih metod, ki so navedeni v Prilogi 4 te odredbe, ter zna:

- obdelati, analizirati in interpretirati rezultate postnatalnih in prenatalnih diagnostičnih primerov iz področja diagnostike, opredeljenih v točkah 2.3.1. in 2.3.2. te Priloge,
- praktično izdelati, analizirati in interpretirati diagnostične primere zarodnih in somatskih sprememb pri rakavih boleznih.

2.3.4. Predstavitev rezultatov in sodelovanje z zdravniki

Specializant je sposoben zbrati, razložiti, predstaviti in sporočiti ustrezno informacijo glede na podatke o preiskovancu, želeno testiranje in dobljene rezultate. Usposobljen je za samostojno izvedbo različnih naštetih (v točkah 5.1. do 5.5. te Priloge) naštetih preiskav, razlago rezultatov in pripravo poročila (izvida) analize.

Ob koncu usposabljanja specializant pridobi ustrezno znanje, da lahko:

- svetuje kolegom glede primernosti uporabe (izvedbe) želenega testa,
- svetuje glede ustreznosti izbire alternativnih tehnik, svetuje in oceni ustreznost vzorcev za specifično testiranje,
- svetuje, katere člane družine je priporočljivo testirati pri družinski analizi,
- svetuje glede razvrščanja, ocene napovedi poteka bolezni, izbire in spremljanja zdravljenja pri rakavih boleznih
- iz pridobljenih rezultatov sestavi klinično ustrezno poročilo (izvid),
- uporablja program Cyrillic oziroma kateri koli drug program za risanje rodovnikov ter
- obvlada Bayesov račun in oceni genetsko tveganje za določeno bolezen.

Specializant spozna povezavo med laboratorijskimi rezultati in kliničnimi znaki ter se zna posvetovati glede pridobljenih rezultatov z zdravniki in kolegi ali sodeluje kot član posvetovalne skupine. Pri predstavitvi rezultatov specializant spoštuje zaupnost podatkov.

Način usposabljanja: praktično delo v citogenetskem, molekularno-citogenetskem in molekularno-genetskem laboratoriju (minimalni obseg laboratorijskih preiskav, določen v točkah 5.1. do 5.5. te Priloge).

3. Vodenje laboratorija

Specializant pridobi znanja, potrebna za vodenje genetskega laboratorija. Obvlada ključne faze izvajanja preiskav. Obvlada sprejem vzorcev in pozna ključne vplive pred-analitskih napak na kakovost rezultatov preiskav, jih zna prepoznati in preprečevati. Pozna analitske postopke, jih zna overjati in optimizirati. Zna oceniti primernost različnih aparatov in jih uporabljati. Zna oceniti ustreznost izbire laboratorijske preiskave glede na indikacijo, ter preiskave ustrezno izvesti. V po-analitski fazi zna nadzorovati ustrezno uporabo in interpretacijo rezultatov, pripravo izvida z avtorizacijo, ter arhiviranje testnega materiala.

Specializant pozna zahtevano znanje zaposlenih v laboratoriju in možnosti za izpopolnjevanje njihovega znanja. Poleg tega je specializant sposoben tudi finančnega nadzora, planiranja dela in nabave potrošnega materiala in opreme v laboratoriju. Pozna pravilnik, ki določa pogoje, ki jih morajo izpolnjevati laboratoriji za izvajanje preiskav na področju laboratorijske medicine in z izvajanjem notranjega ter zunanjega nadzora kakovosti.

Specializant se med specializacijo seznani in osvoji tudi splošna znanja iz laboratorijskega dela: predpise o varnosti v laboratoriju in ukrepe ob nezgodah (ogelj, zastrupitve, kontaminacije, druge laboratorijske nesreče), delo s kemikalijami, mutagenimi in karcinogenimi substancami, infekcijskim materialom, samozaščito pri delu, poznavanje in preprečevanje kontaminacije pri izvedbi analiz.

4. Nastop

Specializantov odnos do dela in kolegov v laboratoriju, do pacientov in drugega osebja je profesionalen. Zaveda se odgovornosti, ki zajema poznavanje omejitev v lastnem delu in iskanje drugega mnenja pri reševanju problemov.

5. Tečaji, seminarji in konference

Udeleži se seminarjev s področja genetike (kot navedeno v 7. členu te odredbe) in sodeluje s svojim prispevkom na vsaj enem domačem ali mednarodnem srečanju na leto. O vseh aktivnostih vodi dokumentacijo.

6. Izbirno delo

Specializant opravlja prakso na različnih področjih: nevrogenetika, kardiogenetika, genetika metabolnih bolezni, biokemijska genetika, reproduktivna genetika, forenzična genetika, onkogenetika solidnih tumorjev, hematološka genetika, genska terapija ter druga področja medicinske genetike.

Izbirno delo se opravlja v skladu z individualno izbranim programom po dogovoru z mentorjem.