

1. CHE COSA È L'ANALISI DI PANNELLI GENETICI MEDIANTE NGS DI GRADO CLINICO?

L'**Analisi di Pannelli Genetici mediante NGS di Grado Clinico** è una nuova analisi genetica a fini diagnostici basata sul sequenziamento (cioè la "lettura") dell'intero esoma. L'esoma rappresenta l'insieme delle porzioni del nostro genoma (l'intero corredo genetico ereditato dai genitori) che fornisce "istruzioni" per fabbricare le proteine dell'organismo. Sebbene corrisponda ad appena l'1-2% del genoma, è nell'esoma che avviene la quasi totalità delle mutazioni (oltre l'85%) associate a malattie genetiche.

Il test è in grado di valutare, simultaneamente ed integralmente, oltre 20,000 geni nello stesso individuo. Pertanto, differisce dalle analisi genetiche "tradizionali" che analizzano numeri ristretti di mutazioni o geni, ed i cui risultati spesso risultano inconclusivi a fini diagnostici a causa della complessità genetica delle patologie in oggetto.

Questa analisi si distingue anche da altri servizi basati su analoghe tecnologie di sequenziamento del DNA di nuova generazione, sia per l'accuratezza analitica (ogni posizione sul DNA viene valutata in media circa 90 volte), sia per l'approccio interpretativo, che si basa sulla valutazione di una serie di banche dati e sull'impiego di criteri analitici alternativi (*Phenotype-driven analysis*).

L'analisi viene effettuata da R&I GENETICS Srl, un laboratorio di diagnostica genetica, con lunga esperienza in diagnostica molecolare, accreditato con il Sistema Sanitario Regionale al servizio di ospedali ed altre strutture sanitarie.

2. COME VIENE SVOLTA L'ANALISI?

L'analisi richiede un prelievo di una piccola quantità di sangue periferico o saliva del paziente (per le quantità necessarie, seguire le istruzioni del laboratorio) e, talvolta, anche dei genitori o familiari stretti. Dal campione viene estratto il DNA necessario per il sequenziamento tramite la tecnica del "Next generation sequencing". Una volta ottenute le sequenze, queste vengono analizzate ed interpretate in funzione dei più recenti dati genetici presenti nella letteratura medico-scientifica internazionale, riguardo alle patologie o alla sintomatologia in questione. Le eventuali varianti patologiche identificate vengono confermate nel campione di origine impiegando tecnologie alternative, come il sequenziamento Sanger o la real-time PCR.

Data la complessità dei dati, la loro interpretazione avviene in due fasi:

- Fase 1 Ricerca di *mutazioni in geni riconosciuti* avere rilevanza clinica nelle patologie in questione (ricerca focalizzata su pannelli "geni-malattia").
- Fase 2 Ricerca di *mutazioni in geni con sospetta rilevanza clinica* nelle patologie o sintomatologie in questione, sulla base delle attuali conoscenze scientifiche.

3. QUALI SONO I POSSIBILI RISULTATI DELL'ANALISI? IN CHE TEMPI?

I possibili risultati di un'analisi genetica basata sul sequenziamento con la metodologia NGS sono:

- Risultato Positivo Identificazione di una o più alterazioni genetiche (mutazioni) note essere responsabili della condizione patologica in questione
- Risultato Incerto Identificazione di una o più alterazioni genetiche che, sulla base delle attuali conoscenze scientifiche, hanno significato clinico incerto o non chiaro in relazione alla condizione patologica in questione (*vedi paragrafo 4*).
- Risultato Negativo Nessuna alterazione genetica identificata che, sulla base delle attuali conoscenze scientifiche, possa spiegare la condizione patologica in questione (*vedi paragrafo 4*).

L'emissione del referto da parte del Laboratorio può avvenire tra i 60 e i 120 giorni dall'arrivo del campione, a seconda del pannello genetico richiesto e/o dell'eventuale urgenza. Il referto verrà inviato, in duplice copia, esclusivamente al Medico che ha richiesto l'analisi o alla Struttura sanitaria alla quale appartiene. Esso conterrà, oltre al risultato, anche la lista dei geni presi in considerazione ed i relativi dettagli informativi.

4. QUALE È L'IMPATTO DELLE CONOSCENZE SCIENTIFICHE?

L'interpretazione delle varianti genetiche, e quindi il risultato dell'analisi, si basa sulle conoscenze scientifiche disponibili al momento dell'analisi. Tuttavia, le conoscenze sulla funzione dei geni e delle loro varianti nelle malattie stanno aumentando rapidamente. È possibile che, al momento dell'analisi, la causa genetica alla base della condizione patologica in questione non sia ancora stata individuata, ma che possa essere identificata con il progredire delle conoscenze. Analogamente, ad una variante genetica definita oggi "di significato sconosciuto o incerto" potrebbe, nell'immediato futuro, essere attribuita rilevanza clinica. A tale riguardo, R&I GENETICS, nel caso di risultati incerti o negativi, continuerà ad aggiornare, sulla base di nuove conoscenze scientifiche ed in collaborazione con il Medico richiedente, l'interpretazione dei dati dell'analisi. Qualora si rendessero disponibili nuove informazioni, il medico che ha richiesto l'analisi si metterà in contatto con il paziente o i suoi familiari.

5. QUALI SONO I LIMITI DELL'ANALISI?

Pur assicurando il rilevamento di oltre l'85% di tutte le variazioni di rilevanza clinica sull'intero corredo genetico di un individuo, come tutte le tecniche analitiche, il test presenta dei limiti di tipo tecnico:

- Rileva *solo* le varianti presenti nella regione codificante dei geni e che compromettono la funzione proteica.
- Rileva unicamente mutazioni di tipo puntiforme, insieme a piccole inserzioni o delezioni nel DNA. Altri tipi di alterazioni del DNA non vengono rilevate.
- Piccole porzioni dell'esoma (di solito, globalmente inferiori al 10%) possono presentare caratteristiche che ne rendono problematica l'analisi. Tali porzioni potrebbero rimanere in parte escluse dai risultati, in quanto intrinsecamente difficili da valutare con qualunque tecnica di sequenziamento.

6. POSSIBILI PROBLEMATICHE LEGATE ALLA GESTIONE DEI RISULTATI

Trattandosi di dati genetici, è verosimile che questi abbiano delle implicazioni, oltre che per il soggetto che si sottopone all'analisi, anche per uno o più dei suoi familiari. Ad esempio, nel caso in cui venga riscontrata una mutazione che aumenta il rischio di sviluppare una determinata malattia, altri membri della famiglia potrebbero essere portatori della stessa mutazione. Questo tipo di informazione potrebbe quindi generare allarme anche in persone che non hanno richiesto di sottoporsi all'indagine. D'altro canto, questo aspetto può essere considerato anche in chiave positiva, in quanto l'informazione sarà potenzialmente utilizzabile a fini preventivi in relazione ad altri componenti della famiglia. Ancora a livello familiare, in alcuni casi, quando le/a mutazioni/e riscontrate/a sono presenti in eterozigosi o nel caso di mutazioni *de-novo*, è fondamentale analizzare anche il DNA dei genitori/parenti stretti. Talvolta, potrebbe verificarsi la necessità di confermare la relazione di parentela con il probando. Va qui considerato che nel caso sia necessaria l'analisi di segregazione famigliare, il risultato è strettamente legato alla corretta indicazione dei legami di parentela dei soggetti analizzati.

Un altro aspetto da considerare è la possibilità di risultati "accidentali" di potenziale rilevanza clinica. Ciò avviene, per esempio, nel caso in cui l'analisi riveli la presenza di una o più varianti genetiche che hanno rilevanza per patologie distinte da quelle per le quale si è richiesto l'esame. Vale, per questa situazione, quanto detto per il caso precedente, con la differenza che qui anche il paziente che si sottopone all'esame si troverà ad affrontare informazioni inattese. Questa possibilità viene segnalata anche nel modulo di consenso informato, che richiede esplicitamente al paziente di scegliere se acconsentire o meno ad essere messo a conoscenza di eventuali risultati "accidentali". Se il paziente sceglie di non acconsentire, i risultati che esulano dallo stretto ambito della richiesta non verranno trasmessi al paziente.

Va infine ricordato che il paziente ha l'accesso ai soli dati genetici emergenti dall'analisi, e dai processi analitici ad essa correlati, dei geni rientranti nella richiesta del Medico Specialista. Per qualsiasi altra domanda di dati, questa deve avvenire su specifica richiesta del Medico specialista.

Il referto finale viene inviato in duplice copia al Medico specialista richiedente, qualora volesse condividere i risultati ottenuti con un altro Medico specialista la preghiamo di contattarci per avere indicazioni sulla procedura da seguire.

7. COME VENGONO TUTELATI I DATI PERSONALI ED I RISULTATI?

Il laboratorio si impegna ad assicurare la riservatezza dei risultati nel pieno rispetto della attuale legislazione nazionale in materia di tutela della privacy (GDPR 679/16). Il materiale biologico del paziente, i suoi dati anagrafici e genealogici e le informazioni sul suo stato di salute e su quello dei suoi familiari verranno utilizzati soltanto nella misura in cui questi sono indispensabili per le attività necessarie a determinare i risultati del test richiesto. Il laboratorio non utilizzerà il DNA del campione biologico per finalità diverse dall'effettuazione dell'analisi in oggetto senza l'esplicito consenso scritto del paziente. I campioni e i dati forniti dal paziente e quelli sulla sua costituzione genetica risultanti dal test sono trattati con modalità, anche informatizzate, soltanto dal personale del Laboratorio incaricato di svolgere le procedure connesse all'esecuzione del test. Il laboratorio trasmetterà i risultati solo al medico (o alla struttura sanitaria) richiedente, se non diversamente indicato dal paziente nel modulo di consenso. Dopo l'esecuzione del test i campioni biologici vengono conservati presso il laboratorio per un periodo di 10 anni. I risultati del test sono conservati presso il laboratorio in conformità ai vigenti obblighi normativi sulla conservazione dei documenti diagnostici (attualmente è in vigore la circolare del Ministero della sanità n. 61 del 19 dicembre 1986 che indica che la documentazione diagnostica di laboratorio deve essere conservata per venti anni). Il paziente potrà in ogni caso e in qualsiasi momento conoscere tutti i dati che lo riguardano, sapere come sono stati acquisiti, verificare se sono esatti, completi e aggiornati, nonché far valere ogni altro suo diritto al riguardo, scrivendo o contattando il Laboratorio o il Responsabile della protezione dei Dati (Dr. Maurizio Dalle Carbonare).

8. REQUISITI PER L'ACCESSO AL SERVIZIO

Il paziente che si sottopone all'esame deve fornire al laboratorio tutti i dati personali indicati nel modulo di richiesta dell'analisi. Nel caso di incompletezza nella compilazione del modulo di richiesta, l'esame potrebbe non essere effettuato.