

SCHEDA INFORMATIVA ANALISI MOLECOLARE MEDIANTE SEQUENZIAMENTO DEL DNA

INTRODUZIONE

Gentile Signora/e,

questo foglio illustrativo è stato realizzato per fornire ai pazienti una serie di informazioni utili per dare consapevolmente il loro consenso all'atto sanitario proposto.

Un paziente ben informato ed un colloquio approfondito ed esauriente con i medici che lo seguiranno sono una solida premessa per instaurare un rapporto di fiducia e di collaborazione medico-paziente, che contribuiscono al successo dell'atto sanitario descritto.

Nel caso le informazioni contenute in questo foglio informativo Le suscitino altre domande, non esiti a sottoporle al medico di riferimento.

DESCRIZIONE DEL TEST PROPOSTO

Il sequenziamento del DNA permette di determinare l'ordine esatto dei nucleotidi che compongono una molecola di DNA. Le metodiche di sequenziamento consentono di identificare varianti nel genoma, qualora presenti, utili per la diagnosi, la prognosi e, se possibile, la scelta del trattamento di malattie geneticamente determinate. Nel nostro servizio vengono utilizzate diverse metodiche di sequenziamento:

- 1) **Sequenziamento Sanger:** consente l'analisi di un singolo gene o di una variante familiare nota. E' spesso utilizzata nell'analisi delle segregazioni familiari.
- 2) **L'analisi NGS (Next-Generation Sequencing)** è una tecnologia ad alta processività che consente di valutare contemporaneamente molti geni. A seconda del numero di geni analizzati possono essere utilizzati diversi approcci:
 - **Pannelli Genici:** analizzano un gruppo selezionato di geni correlati ad una specifica patologia o ad un insieme di malattie. Sono particolarmente utili per la diagnosi mirata di malattie genetiche con diagnosi clinica o un forte sospetto clinico.
 - **WES (Whole Exome Sequencing):** analizza tutte le regioni codificanti del genoma (esoni), che contengono le informazioni per la sintesi delle proteine. È indicato quando si sospetta la presenza di quadri complessi o quando i pannelli genici non forniscono risposte esaustive. In base alla patologia, il medico potrebbe proporre di eseguire un'analisi familiare (non solo nel probando ma anche nei genitori sani - esoma in trio) per aumentare l'efficienza diagnostica del test proposto e ridurre i tempi di refertazione.

IN COSA CONSISTE IL TEST

Le fasi principali del test sono:

Prelievo del campione – Raccolta del materiale biologico del paziente (sangue, saliva, tessuto).

Estrazione del materiale genetico e processamento del DNA – Dal campione si estrae il DNA necessario all'analisi, che viene poi preparato in modo da arricchire le sequenze di interesse.

Sequenziamento – Il DNA viene opportunamente sequenziato da uno strumento dedicato.

Analisi bioinformatica – Le sequenze ottenute vengono elaborate ed analizzate mediante l'utilizzo di software specifici.

Refertazione – I risultati vengono interpretati dai genetisti che producono un referto, poi condiviso con il clinico richiedente.

SCHEDA INFORMATIVA ANALISI MOLECOLARE MEDIANTE SEQUENZIAMENTO DEL DNA

RISULTATO DEL TEST E CONSEGNA DEL REFERTO

I risultati di un test genetico sono complessi e devono essere spiegati da un medico competente nell'ambito di una consulenza genetica. In generale, le analisi genetiche per sequenziamento mirano a rilevare la presenza di varianti genetiche che vengono classificate secondo linee guida internazionali (*American College of Medical Genetics and Genomics ACMG. PMID: 25741868*) in:

- **Varianti patogenetiche (classe 5 ACMG):** alterazioni genetiche con forti evidenze scientifiche di patogenicità. Si tratta di varianti il cui effetto dannoso sulla funzione di un gene è accertato.
- **Varianti probabilmente patogenetiche (classe 4 ACMG):** alterazioni che mostrano un'elevata probabilità di essere patogenetiche e dunque clinicamente rilevanti, ma non vi è evidenza assolutamente certa.
- **Varianti di significato incerto (VUS):** alterazioni genetiche il cui significato clinico non è chiaro al momento della refertazione.
- **Varianti verosimilmente benigne (classe 2 ACMG) e benigne (classe 1 ACMG):** varianti genetiche non riportate nel referto in quanto clinicamente non rilevanti.

Un risultato negativo non esclude la presenza di anomalie genetiche che possono non essere state identificate con la metodica utilizzata. Si fa presente che le varianti possono essere riclassificate nel tempo alla luce di nuove evidenze scientifiche e sulla base di nuovi dati riguardanti il fenotipo del paziente e dei familiari.

Il tempo necessario per ottenere il risultato dell'analisi è fino ad un massimo di 18 mesi, al termine dei quali il referto dell'esame viene inviato al Medico richiedente.

RISCHI LEGATI AL TEST

Risultati secondari: l'analisi dell'esoma può far emergere in tutti i soggetti analizzati (sani e affetti) informazioni genetiche non collegate al motivo di richiesta del test. Le linee guida internazionali (*ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. PMID: 23788249*) suggeriscono di riportare come risultati secondari le varianti causative in geni che provocano patologie trattabili o per le quali è possibile mettere in atto un protocollo di sorveglianza. Prima di eseguire il test i soggetti devono discutere con il medico questa possibilità e decidere se indagare o meno questi geni.

Relazioni familiari inattese: I soggetti che si sottopongono ad un'analisi familiare devono essere consapevoli del fatto che l'analisi genetica estesa alla famiglia evidenzia le relazioni familiari tra i soggetti analizzati. I casi di non paternità o non maternità biologica devono essere segnalati al medico richiedente in modo da poter discutere le opzioni alternative disponibili per eseguire comunque un test. Si precisa che, non essendo oggetto della richiesta l'accertamento in ordine alla maternità/paternità biologica, questa informazione non verrà fornita né sarà oggetto di alcuna refertazione.

Limiti legati alla metodica: Non tutte le varianti causative di patologia possono essere identificate mediante queste metodiche a causa dei limiti intrinseci della stessa.

CONSERVAZIONE DEL MATERIALE BIOLOGICO

Il DNA estratto dal materiale biologico prelevato viene conservato fino ad esaurimento dello stesso, salvo diversa indicazione da parte del paziente.

RIFIUTO ALL'ESECUZIONE DEL TEST

È facoltà dei soggetti interessati all'analisi genetica rifiutare l'esecuzione del test. L'eventuale rifiuto non permetterà l'identificazione di eventuali varianti correlate al quesito diagnostico con conseguente impossibilità di definire il rischio di ricorrenza familiare.