



MEDISYN

Servizio di Genetica, Bioggio

Informazioni sul laboratorio per utenti e pazienti

Orari di apertura e informazioni di contatto

Il laboratorio è aperto durante il normale orario di lavoro come segue:

Dal lunedì al venerdì dalle 08:00 alle 17:00

Per consulenze cliniche relative alla richiesta di esami e all'interpretazione dei risultati degli esami per gli operatori sanitari, è possibile contattarci:

Citogenetica: **Sarah PORTER, Ph.D., ErCLG, FAMH Genetica medica**

Genetica molecolare: **Ilaria SCARPELLI, M.Sc., ErCLG, FAMH Genetica medica**

Si prega di notare che non siamo autorizzati a discutere i risultati con i pazienti. Se Lei è un paziente in attesa dei risultati di laboratorio, La preghiamo di rivolgersi al Suo medico curante.

Telefono: 058 400 15 10

E-mail: genetics.ich@medisyn.ch

Sito web: <https://www.medisyn.ch>

Richieste di analisi

Le richieste di analisi possono essere effettuate elettronicamente tramite SYLEX o utilizzando l'apposito modulo cartaceo (modulo di richiesta per analisi genetiche). Per garantire che il campione venga gestito correttamente, assicurarsi di utilizzare il modulo cartaceo corretto per la richiesta di analisi. **Non si accettano richieste verbali.** I link ai nostri moduli di richiesta sono disponibili sul sito web Medisyn.

Si prega di notare che le richieste di analisi genetiche dovrebbero essere accompagnate dalla firma del medico per confermare che è stato richiesto e ottenuto il consenso informato del paziente. In alcuni casi sono richiesti anche documenti aggiuntivi.

Per ulteriori informazioni, si prega di consultare la sezione "Consenso del paziente" riportata di seguito.



MEDISYN

Informazioni minime per le richieste cartacee:

- Nome completo del paziente
- Data di nascita
- Sesso del paziente
- Luogo di provenienza
- Nome del medico richiedente (numero di contatto auspicabile)
- Firma del medico richiedente
- Data del campione
- Informazioni cliniche
- Esami/analisi richiesti
- Numero dell'ospedale o altro identificativo univoco concordato (se esistente)
- Numero di riferimento del laboratorio di riferimento (se appropriato)

Etichettatura dei campioni (e identificazione dei pazienti)

L'accuratezza dei dati identificativi dei pazienti sui campioni di laboratorio è fondamentale per la sicurezza dei pazienti. È responsabilità della persona che richiede un esame di laboratorio assicurarsi che i campioni siano correttamente etichettati e che i dati richiesti (moduli o richieste elettroniche) siano compilati secondo gli standard richiesti. I dati relativi al campione e alla richiesta devono coincidere.

Informazioni essenziali per l'etichetta del campione:

- Nome completo del paziente
- Data di nascita
- Data del campione

Criteri di rifiuto dei campioni

I campioni possono essere rifiutati nelle seguenti circostanze:

- Mancano le informazioni minime essenziali sul campione o sulla richiesta.
- Le informazioni sul campione e sul modulo di richiesta non corrispondono.
- Il campione non è etichettato o è comunque inadatto (ad esempio, tipo di provetta errato).

Campioni in cui mancano le informazioni minime essenziali

Qualora in un campione o in un modulo di richiesta manchino informazioni essenziali, il laboratorio tenterà di contattare il medico/professionista sanitario/organizzazione di riferimento indicato nella richiesta utilizzando il numero di contatto, se fornito.



MEDISYN

Se il laboratorio non è in grado di contattare il medico/professionista sanitario/organizzazione di riferimento che ha effettuato la richiesta, il campione verrà rifiutato o l'analisi verrà rinviata fino a quando non sarà stato possibile stabilire un contatto. Prima di rifiutare il campione, il laboratorio valuterà la facilità con cui è possibile ripetere il test e l'importanza del campione.

Per contratti specifici, il laboratorio può concordare criteri diversi in relazione all'accettazione/rifiuto dei campioni.

Quando i campioni vengono rifiutati a causa di informazioni insufficienti, verrà emesso un rapporto attraverso il sistema informativo del laboratorio non appena possibile, indicando che il campione non è stato elaborato e fornendo i dettagli.

Se le informazioni mancanti includono il luogo di provenienza del campione e la destinazione del rapporto, il rapporto del paziente non sarà disponibile. È prevedibile che in questo scenario il processo locale di gestione dei risultati in sospenso degli utenti del servizio identificherà i risultati mancanti e avvierà un'indagine.

I campioni che sono stati rifiutati e non elaborati possono essere conservati in laboratorio per un massimo di una settimana per consentire al medico/all'organizzazione richiedente di mettersi in contatto. La conservazione sarà a discrezione del laboratorio.

Campioni che possono essere analizzati anche se mancano informazioni essenziali

Alcuni tipi di campioni sono considerati "preziosi" o estremamente difficili da ripetere (ad esempio biopsie, aspirati) oppure fanno parte di una serie.

In questi casi, un FAMH del laboratorio sarà responsabile di decidere se l'analisi è giustificata. Il medico/professionista sanitario richiedente sarà contattato e invitato a completare i dettagli.

Se i campioni vengono accettati in queste circostanze, i dettagli saranno registrati sul modulo o nel computer. Il referto includerà una chiara dichiarazione di non responsabilità che descrive in dettaglio le carenze del campione e/o della richiesta.

La dichiarazione di non responsabilità identificherà il medico richiedente che ha accettato di assumersi la responsabilità dei risultati e di qualsiasi azione intrapresa a seguito del referto.



MEDISYN

Consenso del paziente

La legge svizzera sull'analisi genetica umana in ambito medico richiede che venga ottenuto il consenso informato del paziente prima di procedere all'analisi. Nella maggior parte dei casi, la richiesta di analisi genetica deve essere presentata da un medico e, in alcuni casi molto specifici, da un medico genetista. La nostra procedura di richiesta di campioni richiede la firma del medico che richiede l'analisi genetica. Con la firma, il medico conferma che è stato richiesto e ottenuto il consenso informato del paziente. Il medico deve inoltre comunicare le volontà del paziente in merito al trattamento del materiale rimanente dopo l'esecuzione delle analisi prescritte. Queste informazioni sono parte integrante dei nostri moduli di richiesta.

Per le analisi genetiche: la firma del medico che conferma il consenso informato del paziente.

Nel caso di analisi prenatali, inoltre: una copia del modulo di consenso SGMG firmato dal paziente (scaricabile dal nostro sito web).

Nel caso del sequenziamento dell'esoma, inoltre: una copia dell'accordo all'analisi da parte dell'assicuratore medico del paziente.

Analisi proposte dal nostro laboratorio

Un elenco completo di tutte le analisi che effettuiamo è riportato nei nostri moduli di richiesta, che possono essere consultati e scaricati dal nostro sito web.

Tempi di refertazione - citogenetica

Questi sono conformi alle linee guida europee (E.C.A.).

Analisi citogenomica costituzionale

Cariotipo postnatale con bandeggio G:

urgente: 7 giorni di calendario
di routine: 28 giorni di calendario

FISH postnatale:

urgente: 2 giorni di calendario
di routine: ≤7 giorni di calendario

Microarray postnatale:

urgente: 10 giorni di calendario
di routine: 28 giorni di calendario



MEDISYN

Analisi citogenomica delle malattie acquisite

Cariotipo con bandeggio G:	urgente: 10 giorni di calendario altri: 21 giorni di calendario
FISH:	urgente: 2 giorni di calendario altri: ≤7 giorni di calendario
Microarray:	urgente: 10 giorni di calendario altri: 21 giorni di calendario

Tempi di refertazione – genetica molecolare

Analisi costituzionale

Postnatale:	≤20 giorni lavorativi
-------------	-----------------------

Analisi neoplasia onco-ematologica

acuta:	10 giorni lavorativi
cronica	21 giorni lavorativi

Comprendere le analisi genetiche che eseguiamo

Le analisi genetiche vengono effettuate a diverse risoluzioni, dai cromosomi interi alle alterazioni di una singola coppia di basi del DNA, per indagare anomalie che possono essere **costituzionali** (presenti in ogni cellula nucleata del corpo) o **acquisite** (che si sviluppano come parte di un processo neoplastico e sono confinate alle cellule maligne).

Cariotipo

L'analisi cromosomica in metafase o cariotipo è un esame visivo manuale dei cromosomi preparati da un campione fresco che consente di rilevare anomalie numeriche e strutturali dei cromosomi.

Quali sono i requisiti del campione? I campioni per il cariotipo devono essere freschi, poiché richiedono cellule vive, e devono quindi essere ricevuti entro 48 ore dal prelievo. I campioni più comuni sono l'aspirato di midollo osseo e i campioni di sangue periferico. I campioni devono essere anticoagulati con eparina, solitamente eparina di litio (provette con tappo verde smeraldo).



Come funziona? Le cellule del campione vengono coltivate in coltura per 1-5 giorni, a seconda delle condizioni di coltura più adatte al motivo del rinvio. Le colture vengono quindi "raccolte", il che arresta le cellule in divisione nella metafase, che è la fase della mitosi in cui tutti i cromosomi diventano visibili. I preparati cromosomici vengono quindi depositati su un vetrino, invecchiati, trattati con l'enzima tripsina e colorati con un colorante per DNA. Questo conferisce al DNA un pattern di bande riproducibile che può essere riconosciuto da analisti cromosomici qualificati (citogenetisti). L'analisi cromosomica in metafase è un test complesso che richiede diversi giorni per preparare il materiale, con l'analisi che richiede diverse ore da parte di analisti qualificati.

Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? Il cariotipo è in grado di rilevare un'ampia varietà di anomalie cromosomiche, tra cui variazioni nel numero dei cromosomi e riarrangiamenti strutturali (ad esempio delezioni, duplicazioni, inversioni o traslocazioni). È anche in grado di identificare la complessità genomica complessiva di un campione. Tuttavia, la risoluzione della cariotipizzazione è limitata, con la più piccola anomalia rilevabile che supera i 5 milioni di coppie di basi di DNA. Piccole varianti (mutazioni) e piccoli riarrangiamenti strutturali potrebbero non essere rilevati. Inoltre, poiché la cariotipizzazione esamina solo le cellule in divisione, se le cellule tumorali non si dividono in coltura, le anomalie potrebbero non essere rilevate.

FISH

L'ibridazione in situ con fluorescenza (FISH) è una tecnica citogenetica che rileva regioni specifiche del DNA sui cromosomi all'interno dei nuclei cellulari, consentendoci di localizzarne la posizione relativa e di quantificarle. La FISH è un test rapido che può essere eseguito su un'ampia gamma di tipi di campioni, ma fornisce solo uno o due risultati per ogni ibridazione.

Quali sono i requisiti del campione? La FISH viene tipicamente eseguita su cellule fissate da un campione fresco (come per gli studi di cariotipizzazione sopra descritti), come l'aspirato di midollo osseo o il sangue periferico.

Come funziona? La FISH utilizza brevi sequenze di DNA fluorescenti, complementari alla regione di interesse. Può essere eseguita sia su cromosomi in metafase che su nuclei in interfase (il che è un vantaggio se non sono disponibili cellule in divisione). Una volta fissate le cellule, queste sonde fluorescenti vengono ibridate (attaccate) in situ ai cromosomi. Infine, i vetrini vengono analizzati utilizzando un microscopio a epifluorescenza.

Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? La FISH può essere utilizzata per identificare l'assenza della regione target (delezione) quando manca un segnale fluorescente. Allo stesso modo, può rilevare la duplicazione, la triplicazione o l'amplificazione della regione, quando vengono contati segnali fluorescenti



sopranumerari. È anche in grado di mostrare quando sono presenti fusioni geniche mediante la sovrapposizione di specifiche sequenze di DNA, indicando una traslocazione o altro riarrangiamento comunemente associato a neoplasie maligne.

SNP-array

Il microarray per polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) è un test molecolare in grado di identificare alterazioni del numero di copie (CNA) a livello genomico e la perdita o l'assenza di eterozigosi (LOH/AOH).

Quali sono i requisiti del campione? L'analisi SNP-array viene eseguita sul DNA. Questo può essere estratto da qualsiasi tipo di tessuto, come sangue periferico, midollo osseo o biopsie tumorali fresche. Il DNA estratto da tamponi buccali o materiale FFPE può portare a risultati di scarsa qualità utilizzando l'SNP-array e non è raccomandato. Poiché un SNP-array richiede almeno un contenuto cellulare anomalo del 20% nel caso di analisi onco-ematologiche, un risultato normale da tessuti con una percentuale inferiore di cellule maligne potrebbe non essere affidabile.

Come funziona? La base di questo test sono gli SNP (*single nucleotide polymorphisms*), ovvero variazioni nelle singole coppie di basi (posizioni) del DNA che possono differire da un individuo all'altro. Una volta estratto il DNA dal campione del paziente, gli SNP vengono amplificati e marcati con un colorante fluorescente (utilizzando un colore diverso per ogni base). Il campione preparato viene applicato a un microchip CytoScan HD con 2,6 milioni di sonde o, se è richiesta specificatamente una risoluzione inferiore, a un microchip CytoScan 750K (entrambi Affymetrix) e si ibridizza con le sonde target fissate sulla superficie del microchip. I segnali di ibridazione provenienti dal microchip vengono scansionati utilizzando un sistema di imaging e i dati vengono analizzati utilizzando il software Chromosome Analysis Suite.

Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? L'array SNP è in grado di identificare le CNA, ovvero i guadagni (duplicazioni, amplificazioni) e le perdite (delezioni), ma anche le LOH/AOH copy-neutral (CN). Ciò significa che è presente la quantità normale di DNA, ovvero due copie, ma entrambe le copie provengono da un solo genitore. Ciò deriva dalla perdita di una sezione di DNA, o addirittura di un intero cromosoma, da un genitore, e la parte mancante viene copiata dal cromosoma rimanente dell'altro genitore per compensare il deficit nel numero di copie. CN-AOH è utilizzato per descrivere una regione omozigote che è osservata in quanto aberrazione costituzionale (germinale); CN-LOH descrive una regione omozigote che è insorta come parte di un processo neoplastico (cancro o pre-cancro) ed è limitata



solo alle cellule maligne. Il CN-LOH può essere equivalente a una delezione in determinati scenari, ad esempio quando la regione di DNA implicata contiene un gene mutato. Ciò significa che la mutazione è molto probabilmente presente in entrambe le copie del gene (nota come omozigote o biallelica). I riarrangiamenti bilanciati non possono essere rilevati utilizzando questo test. Ciò significa che le fusioni geniche non possono essere rilevate, a meno che non vi sia una delezione o una duplicazione associata di una regione tra due geni chiave. Anche le varianti a singolo nucleotide (SNV) non possono essere rilevate. Nel caso dell'analisi oncoematologica acquisita, non vengono riportati CNA inferiori a 5 Mb e CN-LOH inferiori a 10 Mb, in assenza di geni rilevanti per la malattia. Nel caso dell'analisi costituzionale (germinale), possono essere riportati CNA con una risoluzione fino a 50 kb e CN-AOH di 5 Mb.

Real-time PCR

Il test real-time PCR è una tecnica rapida e sensibile che consente l'amplificazione del DNA. Tuttavia, la differenza principale rispetto alla PCR convenzionale è che la real-time PCR è cinetica. Mentre la PCR convenzionale si basa sulla valutazione del punto finale una volta completato il processo di amplificazione, con la real-time PCR il prodotto generato viene rilevato e misurato ad ogni ciclo di amplificazione al di sopra della soglia di rilevamento.

Quali sono i requisiti del campione? Questo test viene eseguito su campioni di sangue periferico EDTA (provette con tappo viola) o biopsie del midollo osseo, ricevuti entro 48 ore dal prelievo.

Come funziona? Il campione ricevuto deve essere trattato per l'estrazione del DNA o dell'RNA. Su questo estratto viene eseguita la real-time PCR. Oltre ai due primer che fiancheggiano la regione da amplificare, la real-time PCR si basa su una breve sonda di DNA, con una molecola segnalatrice fluorescente a un'estremità e una molecola estinguenza all'estremità opposta della sonda. La vicinanza del quencher alla molecola reporter sulla sonda intatta impedisce il rilevamento della fluorescenza dal reporter. Tuttavia, quando la *Taq* polimerasi nella miscela di reazione PCR assembla un nuovo filamento di DNA dal filo modello, incontra la sonda e la rimuove base per base. La molecola reporter viene così separata fisicamente dal quencher, consentendo l'emissione di fluorescenza non quenched. Ciò può essere rilevato dopo l'eccitazione con un laser. Un aumento del prodotto bersagliato dalla sonda reporter ad ogni ciclo PCR provoca quindi un aumento proporzionale della fluorescenza dovuto alla rottura della sonda e al rilascio del reporter. Viene stabilita una soglia per il rilevamento della fluorescenza al di sopra del rumore di fondo del segnale. Il numero di cicli PCR in cui la fluorescenza supera la soglia è chiamato ciclo di soglia (C_T). Maggiore è la quantità di DNA/cDNA iniziale, minore è il C_T .



Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? La real-time PCR può essere utilizzata per rilevare fusioni geniche mirate, mutazioni specifiche, ecc. con una sensibilità maggiore rispetto alla PCR classica.

Sequenziamento Sanger

Il sequenziamento Sanger è un metodo convenzionale di sequenziamento del DNA che è stato in gran parte sostituito da tecniche più avanzate come il sequenziamento di nuova generazione (NGS), che offrono una maggiore produttività e applicazioni più ampie.

Quali sono i requisiti del campione? Questo metodo può essere eseguito su DNA estratto da vari tipi di tessuto, a seconda del materiale disponibile e dello scopo del test, anche se sono preferibili campioni freschi.

Come funziona? Il DNA viene estratto dal campione e amplificato mediante PCR con nucleotidi fluorescenti che terminano la catena. Questo produce frammenti di lunghezza variabile, che vengono poi elaborati mediante elettroforesi capillare con rilevamento fluorescente. La sequenza del DNA viene ricostruita per essere analizzata da un software specifico.

Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? Il sequenziamento Sanger è in grado di identificare varianti di singolo nucleotide (SNV), inversioni e piccole inserzioni, delezioni o duplicazioni nella regione target.

Analisi mirata dei frammenti PCR

L'analisi dei frammenti PCR identifica anomalie genetiche mirate misurando le dimensioni dei frammenti di DNA dopo la PCR.

Quali sono i requisiti del campione? Questo metodo utilizza DNA estratto da tutti i tipi di tessuto, a seconda dello scopo del test.

Come funziona? Il DNA viene amplificato mediante PCR utilizzando sonde fluorescenti. I prodotti vengono quindi caricati nell'analizzatore per la separazione mediante elettroforesi capillare, dove le dimensioni dei frammenti di DNA vengono rilevate utilizzando un sensore dedicato. Infine, i risultati vengono analizzati utilizzando un software specifico.

Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? L'analisi dei frammenti PCR valuta solo la dimensione dei prodotti e quindi rileva piccoli guadagni, duplicazioni e perdite. Utilizzando primer specifici per basi di diverse dimensioni, è anche in grado di rilevare lo stato di metilazione o varianti di singolo nucleotide.



Pannelli genetici NGS

Un pannello di sequenziamento di nuova generazione (NGS) analizza contemporaneamente vari geni di interesse per una particolare malattia. I geni vengono sequenziati integralmente, consentendo l'individuazione di varianti chiave rilevanti per la gestione clinica del paziente.

Quali sono i requisiti del campione? I pannelli genetici NGS utilizzano DNA estratto da vari tipi di tessuto, a seconda del materiale disponibile e dello scopo del test, come sangue periferico, midollo osseo o biopsie tumorali fresche.

Come funziona? Il DNA viene estratto dal tessuto disponibile. Quindi i geni target su un particolare pannello vengono amplificati mediante PCR con numerosi primer, generando frammenti di tutte le regioni di interesse. I DNA amplificati vengono quindi combinati in una libreria e sequenziati mediante NGS. I file di dati generati vengono mappati rispetto a un genoma di riferimento, il che consente di rilevare eventuali varianti nel campione. Infine, le possibili varianti patogene vengono filtrate da una specifica pipeline bioinformatica e classificate dagli biologi FAMH per valutarne la rilevanza clinica.

Quali anomalie genetiche è in grado di identificare? Questi test sono in grado di rilevare piccole varianti somatiche all'interno dei geni target inclusi in ciascun pannello. Le varianti filtrate possono essere classificate in benigne o probabilmente benigne, VUS (Varianti di significato sconosciuto) o oncogeniche o probabilmente oncogeniche. Le varianti oncogeniche o probabilmente oncogeniche (= patologiche) sono considerate rilevanti e quindi incluse nel referto destinato al medico.

Complimenti e reclami

I complimenti possono essere inviati per iscritto tramite e-mail al laboratorio, come indicato sopra.

Reclami: se Lei non è soddisfatto del servizio che ha ricevuto da noi, ha il diritto di presentare un reclamo, di farlo esaminare e di ricevere una risposta. Riteniamo che, quando vi è motivo di reclamo, sia importante per noi riconoscerlo, risolvere rapidamente il problema e imparare dall'esperienza. Tutti i reclami saranno esaminati in modo approfondito dal nostro team interno di biologi FAMH, dal team di controllo qualità e dal responsabile delle operazioni.

È possibile presentare un reclamo verbalmente, per iscritto o elettronicamente tramite il numero di telefono o l'indirizzo e-mail indicati nella prima pagina della presente guida. Chiunque abbia utilizzato il servizio da noi fornito può presentare un reclamo. Riceverà una risposta scritta di conferma del reclamo. Verrà quindi avviata un'indagine in conformità con la procedura di reclamo della nostra azienda.