

# IGENOMIX ITALIA MANUALE DELL'UTENTE (Carta dei Servizi)



**MED N° 0012M**  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
*Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements*



**MED N° 0012M**  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
*Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements*



<b>Presentazione</b> .....	<b>4</b>
<b>1 IGENOMIX ITALIA</b> .....	<b>5</b>
1.1 <i>POLITICA DELLA QUALITA'</i> .....	5
1.2 <i>INTRODUZIONE</i> .....	5
1.3 <i>RESPONSABILITÀ DEL PERSONALE</i> .....	7
1.4 <i>ORARI DI APERTURA</i> .....	7
1.5 <i>COME CONTATTARCI</i> .....	8
1.6 <i>COME RAGGIUNGERCI</i> .....	8
1.7 <i>INFORMAZIONI SULLA STRUTTURA SANITARIA</i> .....	9
1.8 <i>PRINCIPI FONDAMENTALI</i> .....	9
<b>2 ATTIVITÀ PRINCIPALI</b> .....	<b>10</b>
2.1 <i>POLITICA DI LABORATORIO SULLA PROTEZIONE DEI DATI PERSONALI</i> .....	10
2.2 <i>REQUISITI NECESSARI PRIMA DI INVIARE UN CAMPIONE</i> .....	10
2.3 <i>CRITERI PER ACCETTARE O RIFIUTARE UN CAMPIONE</i> .....	10
2.4 <i>ISTRUZIONI PER IL COMPLETAMENTO DELLA DOCUMENTAZIONE DI RICHIESTA</i> .....	11
2.5 <i>PROCEDURA PER I RECLAMI</i> .....	11
<b>3 SERVIZI OFFERTI</b> .....	<b>12</b>
3.1 <i>TEST GENETICO PREIMPIANTO PER MALATTIE MONOGENICHE (PGT-M)</i> .....	12
3.2 <i>TEST GENETICO PREIMPIANTO PER ANEUPLOIDIE (PGT-A)</i> .....	14
3.3 <i>TEST GENETICO PREIMPIANTO PER RIARRANGIAMENTI STRUTTURALI (PGT-SR)</i> .....	16
3.4 <i>TEST GENETICO PREIMPIANTO PER PLOIDIA</i> .....	18
3.5 <i>TROMBOFILIA EREDITARIA §</i> .....	19
3.6 <i>ANALISI FIBROSI CISTICA §</i> .....	21
3.7 <i>TEST GENETICO CARRIER SCREENING (CGT Essential)</i> .....	24



<b>4</b>	<b>TEST IN OUTSOURCING (non rientranti nell'accreditamento ISO 15189)</b> .....	<b>25</b>
4.1	ANALISI DELLA RICETTIVITÀ ENDOMETRIALE (ERA).....	25
4.2	ANALISI METAGENOMICA DEL MICROBIOMA ENDOMETRIALE (EMMA) .....	26
4.3	ANALISI DI ENDOMETRITE INFETTIVA CRONICA (ALICE).....	28
4.4	NACE & NACE EXTENDED 24 .....	29
4.5	TEST GENETICO CARRIER SCREENING (CGT PLUS E CGT EXOME) .....	30
4.6	TEST ANEUPLOIDIE SPERMATICHE (SAT).....	31
4.7	ANALISI DEI PRODOTTI DI CONCEPIMENTO (POC) .....	31
4.8	ANALISI DEL CARIOTIPO SU SANGUE PERIFERICO .....	32
<b>5</b>	<b>QUALITÀ</b> .....	<b>34</b>
5.1	ACCREDITAMENTO E PARTECIPAZIONE A CIRCUITI DI VALUTAZIONE ESTERNA.....	34
5.2	STANDARD DI QUALITÀ .....	34
5.3	STRUMENTI DI VERIFICA PER IL RISPETTO DEGLI STANDARD.....	34
5.4	IMPEGNI E PROGRAMMI PER LA QUALITÀ.....	34
5.5	INDAGINE SULLA SODDISFAZIONE DEI CLIENTI .....	35



MED N° 0012M  
 Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
 Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



# Presentazione

## **Gentile Paziente/Clinica,**

*Le presentiamo la Carta dei Servizi del laboratorio Igenomix Italia, con lo scopo di rappresentare trasparenza e qualità in favore del Vostro diritto alla salute. Infatti la Carta dei Servizi Vi porta a conoscenza del nostro laboratorio e dei "percorsi" di qualità che seguiamo per assicurare il migliore livello dei servizi offerti.*

*Non è quindi un semplice libretto informativo, ma uno strumento attraverso il quale si vuole instaurare un colloquio costruttivo e sempre rivolto al miglioramento di quanto è ancora perfezionabile.*

*È stata elaborata con l'apporto del personale sanitario, ponendo grande attenzione ai suggerimenti dei nostri medici e pazienti.*

*La nostra Carta dei Servizi vuole in qualche modo far trasparire i principi ispiratori della gestione del laboratorio: umanità ed efficienza.*

*L'introduzione dei nuovi modelli organizzativi rappresenta il risultato di un processo di revisione effettuata con l'ausilio di un Sistema di Gestione per la Qualità conforme ai requisiti degli Standard UNI EN ISO 9001, che ha promosso l'adozione di nuove modalità d'intervento ed i criteri di revisione di tutte le attività che vengono svolte nella Struttura al fine di renderle sempre più aderenti ai bisogni ed alle aspettative dei Pazienti.*

*Vi preghiamo ed invitiamo, al fine di mantenere sempre vivi i nostri principi/obiettivi, di compilare il questionario valutativo, che potete scaricare dal nostro sito web, per esprimerci le Vostre opinioni ed i Vostri suggerimenti.*

**Quanto è stato fatto è dovuto non solo alla volontà di operare in una prospettiva di qualità e di miglioramento continuo, ma anche di perseguire con maggiore impegno i valori deontologici ed etici che caratterizzano da sempre l'attività del nostro Laboratorio.**

**I nostri migliori auguri.**

**La Direzione del  
Laboratorio**

**Dr. Antonio Capalbo**



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



# 1 IGENOMIX ITALIA

## 1.1 POLITICA DELLA QUALITA'

Il nostro obiettivo è fare ricerca sulla riproduzione umana e cambiare la vita di quelle coppie che tentano di concepire, in modo che l'infertilità non costituisca più una barriera insormontabile.

La *mission* del laboratorio Igenomix Italia è permettere la nascita di bambini sani grazie a screening di alta qualità.

Perciò, per assicurare il raggiungimento di questo obiettivo, la politica del laboratorio è quella di mantenere l'accuratezza dei risultati, attraverso l'adozione di metodiche e di strumentazioni innovative ed efficienti, e mediante la formazione continua del personale.

Lo staff, infatti, è composto da biologi e biotecnologi, di provata professionalità nell'ambito della biologia molecolare e della genetica umana e sono stati specificamente formati per l'esecuzione delle prestazioni offerte.

Non da ultimo, il laboratorio sta acquisendo riferibilità per il supporto alle indagini genetiche nel campo della PMA grazie alla continua attività di ricerca che comporta la pubblicazione di articoli scientifici e la presentazione dei risultati in convegni e congressi internazionali.

Inoltre, Igenomix Italia ha alzato l'asticella della qualità attraverso l'accreditamento secondo la norma UNI EN ISO 15189:2013, in quanto questa norma unisce i requisiti gestionali per la qualità coerentemente alla ISO 9001 e i requisiti per la competenza tecnica sulla base della ISO/IEC 17025.

## 1.2 INTRODUZIONE

<b>Ragione sociale</b>	Igenomix Italia S.r.l.
<b>Sede legale ed amministrativa</b>	Via Fermi, 1 - 36063 Marostica (VI)
<b>Città</b>	Marostica (VI)
<b>Partita IVA e C.F.</b>	03793960240
<b>PEC</b>	igenomix.italia@legalmail.it

Il Laboratorio Igenomix Italia svolge attività diagnostica: analisi genetiche molecolari e cliniche in ambito biomedico.

Il Laboratorio Igenomix Italia ha fatto dell'accuratezza dei risultati, dell'adozione delle metodiche e della strumentazione più innovativa ed efficiente, della formazione continua del personale la propria *mission*.

La struttura organizzativa di Igenomix Italia prevede l'accettazione di campioni esterni, il prelievo di materiale biologico in sede e l'analisi di laboratorio.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



Lo staff di Igenomix Italia è composto da biologi e biotecnologi di provata professionalità nell'ambito della biologia molecolare e della genetica umana, specificamente formati per l'esecuzione delle prestazioni offerte.

Il laboratorio Igenomix Italia svolge le proprie attività nell'intero territorio nazionale e sta acquisendo riferibilità per il supporto alle indagini genetiche nel campo della PMA.

Inoltre, dal 2019, Igenomix Italia è stata accreditata secondo la norma UNI EN ISO 15189:2012 "Laboratori medici" dall'ente di accreditamento italiano, Accredia, con numero di certificato: 0012M.

## PRESENTAZIONE DEI SERVIZI OFFERTI

Il Laboratorio Igenomix Italia è autorizzato alle attività di laboratorio di analisi chimico cliniche, molecolari e genetiche dal Comune di Marostica.

Il laboratorio Igenomix Italia eroga le seguenti prestazioni:

- Test Genetico pre-impianto per malattie monogeniche (pre PGT-M e PGT-M),
- Test Genetico pre-impianto per aneuploidie e riarrangiamenti strutturali embrionali (PGT-A e PGT-SR),
- Test Genetico pre-impianto per valutare il numero di set cromosomici (Ploidia),
- Karyomapping per patologie monogeniche ed aneuploidie cromosomiche,
- Analisi di ricettività endometriale (ERA) (eseguito presso laboratorio di riferimento del gruppo Igenomix)§,
- Analisi del microbioma endometriale (EMMA-ALICE) (eseguiti presso laboratorio di riferimento del gruppo Igenomix)§,
- Diagnosi molecolare di trombofilia ereditaria§,
- Diagnosi molecolare di fibrosi cistica (eseguita presso laboratorio esterno)§,
- Diagnosi molecolare di microdelezioni del cromosoma Y (eseguita presso laboratorio esterno)§,
- Cariotipo standard e cariotipo molecolare array-CGH (eseguiti presso laboratorio esterno)§,
- Test prenatale non invasivo (NACE/NACE esteso 24 cromosomi, eseguito presso sede centrale in Spagna – Igenomix S.L.)§,
- Carrier Screening Test (CGT Essential),
- Carrier Screening Test (CGT Plus§ ed Exome§), (eseguiti presso laboratorio di riferimento del gruppo Igenomix)§,
- Test per l'analisi dei prodotti del concepimento (POC) (eseguito presso laboratorio di riferimento del gruppo Igenomix)§,
- Test per l'analisi delle aneuploidie spermali (SAT) (eseguiti presso laboratorio di riferimento del gruppo Igenomix)§,
- Test molecolare per l'identificazione dell'RNA del virus SARS-CoV-2 (Test PCR COVID-19) §,

I test con il simbolo § sono quelli che non fanno parte del campo di applicazione della norma ISO 15189.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



Le attività sono svolte in accordo a procedure operative standard e le singole sedute analitiche sono sottoposte a controlli di qualità interni. Il laboratorio ha inoltre intrapreso un percorso di esecuzione di controlli interlaboratorio.

Il laboratorio *Igenomix Italia* è in grado di eseguire le proprie prestazioni sia su campioni prelevati direttamente in sede che su quelli ricevuti da altri centri/laboratori con i quali sono intrattenuti rapporti di lab service.

### 1.3 RESPONSABILITÀ DEL PERSONALE

La struttura organizzativa è schematizzata nella seguente tabella ove sono indicate le principali responsabilità del personale.

FUNZIONE	RESPONSABILE
Business Development Director	Cristina Iranzo
Direttore del laboratorio e della parte di Ricerca e Sviluppo	Antonio Capalbo
Responsabile Gestione Qualità e <i>Lab Manager</i>	Cristina Patassini
Assistente Sistema Gestione Qualità	Martina Costa
<i>Lab specialist</i>	Laura Girardi
<i>Lab specialist</i>	Silvia Caroselli
Tecnico di laboratorio	Ilaria Pergher
Tecnico di laboratorio	Martina Bazzega
Tecnico di laboratorio	Beatrice Rossato
Tecnico di laboratorio	Paola Zambon
Logistica e <i>Customer support</i>	Serena Degano
<i>Key Account Manager</i>	Monica Sturni
<i>Key Account Manager</i>	Silvia Tomasini
Responsabile amministrazione e finanza	Alessandra Carlotto
Responsabile Gestione Qualità e Processi interni (Igenomix SL)	Belén Arnau Colomer
Responsabile del Servizio di Prevenzione e Protezione esterno	Wendy Dal Zotto
Affiancamento nella redazione e nell'aggiornamento della documentazione per ISO 9001:2015 e ISO 15189:2012	<u>Conteg AQS - Ambiente Qualità Sicurezza Srl:</u> Andrea Orsi Marta Bellin

### 1.4 ORARI DI APERTURA

GIORNI	ORARIO DI APERTURA DEL LABORATORIO	ORARIO PRELIEVI*
Lunedì—Venerdì	8:30 ÷ 18:00	7:00 ÷ 9:30
Sabato	chiuso	7:00 ÷ 9:30

\* presso il Centro Salus



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



## PRENOTAZIONE

L'accesso ai servizi avviene attraverso la prenotazione della prestazione di persona, telefonicamente o tramite e-mail con un operatore dello sportello Accettazione o del Customer Support.

La prestazione può essere prenotata:

- dal paziente,
- dal medico di riferimento,
- dalla struttura sanitaria afferente.

### 1.5 COME CONTATTARCI

#### Per informazioni di carattere generale o effettuare prenotazioni:

**Telefono** 0424.472449

**E-mail:** [supportitalia@igenomix.com](mailto:supportitalia@igenomix.com)

#### Per le richieste di laboratorio:

**Telefono** 0424.472449

**E-mail:** [laboratorioitalia@igenomix.com](mailto:laboratorioitalia@igenomix.com)

#### Per le richieste di carattere amministrativo:

**Telefono** 0424.472449

**E-mail:** [amministrazione@igenomix.com](mailto:amministrazione@igenomix.com)

#### Per le richieste relative alla documentazione:

**E-mail:** [qualityitaly@igenomix.com](mailto:qualityitaly@igenomix.com)

### 1.6 COME RAGGIUNGERCI

Il laboratorio Igenomix Italia è presso il Centro Salus, situato in Via Fermi,1 Marostica (VI) ed è facilmente raggiungibile mediante la SS 248 Viale Vicenza.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements





## 1.7 INFORMAZIONI SULLA STRUTTURA SANITARIA

Il laboratorio Igenomix Italia, vista la complessità delle indagini diagnostiche effettuate, assicura l'esecuzione delle attività in ambienti di lavoro dotati delle seguenti caratteristiche:

### REQUISITI IMPIANTISTICI

Il laboratorio è dotato di condizionamento ambientale che assicura le seguenti caratteristiche idrotermiche:

- temperatura interna invernale ed estiva compresa tra 20-24° C.
- umidità relativa estiva e invernale 40-60%
- ricambi aria/ora (aria esterna senza ricircolo) 20v/h
- filtraggio aria 99.97%
- Impianto allarmi di segnalazione temperatura frigoriferi

### SICUREZZA

La struttura è stata progettata secondo criteri di massima sicurezza per l'utenza: ricambi dell'aria, climatizzazione ad aria primaria con idonee condizioni di temperatura ed umidità, impianto elettrico con nodi equipotenziali, gruppo di continuità, gruppo elettrogeno, attrezzature tecnologicamente avanzate.

## 1.8 PRINCIPI FONDAMENTALI

Nell'espletamento delle varie attività, il laboratorio si è sempre impegnato al rispetto del cittadino come soggetto dal diritto inalienabile alla salute ed ha considerato ogni persona che si rivolge alla Struttura nella duplice veste di:

- **paziente**, in quanto portatore di un bisogno diagnostico/terapeutico,
- **utente**, in quanto ha riposto la sua fiducia nella Struttura.

Per perseguire tali obiettivi, il Centro ha come punti di riferimento i seguenti principi:

- salvaguardare i principi di **uguaglianza** e di **imparzialità** verso tutti i pazienti e le Cliniche che si rivolgono al nostro laboratorio;
- assicurare **trasparenza** e **semplicità** dei percorsi amministrativi;
- raggiungere **efficienza** organizzativa attraverso l'attenta rilevazione dei suggerimenti dei pazienti e delle Cliniche;
- mantenere **efficacia** tecnica, seguendo costantemente l'evoluzione delle conoscenze scientifiche;
- attivare una **formazione continua** ed una partecipazione di tutto il personale, operante presso la Struttura per crescere insieme e migliorare ogni giorno le nostre offerte di servizi e prestazioni.

Il Paziente e/o la Clinica hanno diritto, inoltre, a presentare reclami e istanze riguardo a servizi erogati non in conformità ai principi enunciati; può produrre documenti, formulare suggerimenti per il miglioramento del servizio ed ha a disposizione come strumento per esprimere la propria opinione e valutazione sui servizi erogati "il **questionario di valutazione del grado di soddisfazione cliente**", periodicamente analizzato e compilabile direttamente dal sito web.

**Efficienza ed Efficacia**, nell'espletamento delle prestazioni e nel raggiungimento degli obiettivi attraverso la messa in atto di metodologie di lavoro scientificamente valide ed aggiornate.

In particolare, l'Efficienza della struttura e l'Efficacia delle prestazioni offerte sono garantiti dall'applicazione di:

- piani di miglioramento della qualità del servizio,
- implementazioni di test diagnostici all'avanguardia e di provata attendibilità.



## 2 ATTIVITÀ PRINCIPALI

### 2.1 POLITICA DI LABORATORIO SULLA PROTEZIONE DEI DATI PERSONALI

Il laboratorio segue rigide politiche in materia di governance delle informazioni e mantiene un'infrastruttura di protezione dei dati in linea con il REGOLAMENTO (UE) 2016/679 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO ("GDPR").

Sono disponibili ulteriori informazioni circa la politica sulla privacy sulla pagina web di IGENOMIX Italia.

### 2.2 REQUISITI NECESSARI PRIMA DI INVIARE UN CAMPIONE

Data la complessità dei test genetici e le implicazioni significative dei risultati, essi devono essere prescritti da professionisti medico-sanitari competenti. Inoltre, i report emessi da Igenomix Italia non includono alcun giudizio diagnostico e i risultati ottenuti devono essere interpretati da professionisti sanitari qualificati insieme ad altri dati clinici.

Quando sono attivati servizi per centri esterni nuovi, le cliniche devono completare il "Clinic Enrollment Form (CEF)" che può essere scaricato dal sito Igenomix Italia o richiesto via e-mail a [supportitalia@igenomix.com](mailto:supportitalia@igenomix.com). Una volta compilato il modulo, è necessario inviarlo per e-mail agli indirizzi [supportitalia@igenomix.com](mailto:supportitalia@igenomix.com) e [amministrazione@igenomix.com](mailto:amministrazione@igenomix.com).

Per tutti i test, devono essere compilati il modulo di richiesta del test e il modulo di consenso informato (se applicabile). Questi documenti devono essere inseriti in una custodia di plastica e inclusi nel kit insieme al campione da inviare al laboratorio. Questi moduli possono essere scaricati dal sito Igenomix Italia o richiesti tramite e-mail a [qualityitaly@igenomix.com](mailto:qualityitaly@igenomix.com).

Per PGT-SR e PGT-M: il modulo di richiesta del test e il report genetico (che specifica la/e mutazione/i e patogenicità/anomalie cromosomiche) devono essere inviati via e-mail a [laboratorioitalia@igenomix.com](mailto:laboratorioitalia@igenomix.com) prima dell'invio del campione (chiamare il n. 0424.472449 per ulteriori informazioni). In questo modo il personale del laboratorio potrà valutare la fattibilità del caso e comunicarla alla Clinica/Medico inviante.

IGENOMIX raccomanda di leggere attentamente le istruzioni, che possono essere trovate sulla pagina Web di IGENOMIX Italia o richieste al nostro servizio di gestione qualità via e-mail, prima di inviare campioni. Questi documenti forniscono informazioni pertinenti sui requisiti dei campioni, sulla preparazione dei pazienti, sulla documentazione dei test, sulla raccolta dei campioni e sulla spedizione dei campioni per i diversi test offerti.

### 2.3 CRITERI PER ACCETTARE O RIFIUTARE UN CAMPIONE

I seguenti casi possono portare al rifiuto del campione:

- Campioni non accompagnati dalla loro documentazione (modulo di richiesta del test, cartella di biopsia e consenso informato)
- Documentazione (modulo di richiesta del test, cartella di biopsia e consenso informato) non compilata correttamente
- Campi obbligatori nella documentazione (indicati nei moduli con un asterisco (\*)) non compilati
- Firma del paziente e/o del medico mancante nel modulo di richiesta del test e/o nel consenso informato



- Provette erroneamente etichettate, senza etichetta o danneggiate
- L'uso di una versione obsoleta del modulo di richiesta del test e / o del consenso informato può ritardare la refertazione o portare al rifiuto del campione.
- Mancato rispetto dei requisiti specifici del test indicati nelle istruzioni (ad esempio, tempi per la raccolta del campione, quantità minime di campione, stato biologico specifico del paziente, ecc.)

## 2.4 ISTRUZIONI PER IL COMPLETAMENTO DELLA DOCUMENTAZIONE DI RICHIESTA

In tutti i documenti sono indicati chiaramente i campi obbligatori da compilare. Il modulo di richiesta esame deve essere firmato dal medico di riferimento. Il modulo di consenso informato (se applicabile) deve essere firmato sia dal paziente che dal medico di riferimento.

Nella maggior parte dei test forniti da IGENOMIX Italia, il modulo di richiesta test e il consenso informato sono combinati nello stesso documento. In questi casi, le firme del medico e del paziente sono da apporre alla fine del modulo combinato, nelle apposite caselle.

Si prega di rivedere attentamente i documenti associati a ciascun test. Non esitate a contattare l'assistenza clienti di IGENOMIX Italia in caso di dubbi sulla corretta compilazione di questi moduli.

## 2.5 PROCEDURA PER I RECLAMI

In caso di limitazione e/o esclusione dalla fruizione di prestazioni erogate e in generale per la segnalazione di disservizi il Paziente e/o la Clinica inviante può:

- + inviare una mail a [supportitalia@igenomix.com](mailto:supportitalia@igenomix.com)
- + telefonare al +39 0424 472449

La Direzione mensilmente analizza i reclami, in quanto responsabile della gestione di questi ultimi. La Direzione ha stabilito in 30 giorni (dalla presentazione del reclamo) il tempo massimo per l'eliminazione del disservizio, qualora il reclamo si rivelasse fondato.

Nel caso in cui tale scadenza non dovesse essere rispettata sarà compito del responsabile accettazione informare il Paziente e/o la Clinica, che ha sollevato il reclamo, dei motivi che hanno portato alla non risoluzione del problema entro i tempi sopra indicati.



## 3 SERVIZI OFFERTI

### 3.1 TEST GENETICO PREIMPIANTO PER MALATTIE MONOGENICHE (PGT-M)

**Descrizione:**

Il test PGT-M può essere eseguito sugli embrioni durante il trattamento di fecondazione in vitro (IVF) per testare le malattie dei singoli geni. PGT-M, che richiede solo un piccolo numero di cellule, identifica quali embrioni non sono a maggior rischio di sviluppare la malattia. L'obiettivo di PGT-M è aiutare le coppie ad avere un figlio sano per la patologia indagata ed evitare la difficile scelta di dover interrompere una gravidanza se si ottiene un risultato "positivo" attraverso la diagnosi prenatale. PGT-M viene eseguito utilizzando la tecnica di SNP Genotyping in real time PCR o di SNP-array mediante Karyomapping.

**Prerequisiti per accettare un caso PGT-M:**

Le malattie genetiche per cui può essere offerta PGT-M sono numerose e i vari metodi utilizzati per la diagnosi riflettono l'eterogeneità delle mutazioni causative. Prima di procedere con il test PGT-M si deve eseguire un test preliminare chiamato pre PGT-M (o set-up). Il test pre PGT-M permette di verificare che sia possibile rilevare le mutazioni specifiche presenti nella coppia richiedente e/o definire l'aplotipo a rischio associato alla mutazione. Per fare ciò, sono necessari campioni di altri familiari affetti o portatori o sani, di cui deve essere disponibile il referto genetico con chiaramente identificato il gene causativo della malattia.

In alcuni casi sarà necessaria una discussione del caso con il personale del laboratorio.

La casistica di PGT-M si può classificare in base al tipo di ereditarietà, come indicato nella seguente tabella:

PATOLOGIA	PAZIENTE	PARTNER	SNP DA SCEGLIERE
<b>AUTOSOMICA DOMINANTE</b>	AFFETTA	SANO	1 SNP INFORMATIVO PER LEI SOPRA LA MUTAZIONE 1 SNP INFORMATIVO PER LEI SOTTO LA MUTAZIONE
<b>AUTOSOMICA DOMINANTE</b>	SANA	AFFETTO	1 SNP INFORMATIVO PER LUI SOPRA LA MUTAZIONE 1 SNP INFORMATIVO PER LUI SOTTO LA MUTAZIONE
<b>AUTOSOMICA RECESSIVA</b>	PORTATRICE	PORTATORE	1 SNP INFORMATIVO PER LEI SOPRA LA MUTAZIONE 1 SNP INFORMATIVO PER LEI SOTTO LA MUTAZIONE 1 SNP INFORMATIVO PER LUI SOPRA LA MUTAZIONE 1 SNP INFORMATIVO PER LUI SOTTO LA MUTAZIONE



### **Requisiti del campione:**

Per la fase di pre PGT-M, sono necessari i prelievi di sangue periferico (in provette EDTA) della coppia e i tamponi buccali di altri familiari rilevanti per l'analisi. Sulla base dell'esito del test pre PGT-M, il laboratorio rilascerà un referto di fattibilità. I pazienti potranno quindi iniziare il ciclo di PMA e procedere con il test PGT-M.

Per il test PGT-M, sono necessarie 5-6 cellule di trofoectoderma ottenute da blastocisti nei giorni 5, 6 o 7 dello sviluppo embrionale. La soluzione utilizzata per lavare e fare il tubing delle cellule bioptiche è fornita dal laboratorio. Le cellule sottoposte a biopsia devono essere raccolte in provette da microcentrifuga sterili da 0,2 ml fornite dal laboratorio. Il tappo di queste provette deve essere etichettato con le iniziali della paziente femminile seguite dal numero dell'embrione e il corpo delle provette deve essere siglato con il "Numero paziente univoco/ID della coppia" seguito dal numero dell'embrione. Tutte le provette da 0,2 ml devono essere collocate in un "rack porta provettine" (fornito dal laboratorio) con il coperchio etichettato con il nome, la data di nascita e il numero ID univoco della paziente. Il "rack porta provettine" a sua volta viene inserito in un sacchetto di plastica sterile all'interno di un dispositivo di raffreddamento con "siberini" fornito anch'esso dal laboratorio. Ulteriori informazioni su come preparare i campioni si trovano nella "IdL 3.7.11 - Protocollo di loading per pgt" che viene fornita al laboratorio cliente durante il percorso di training. Il "Foglio di biopsia dell'embrione" e il "Modulo di richiesta del test" (che possono essere richiesti via e-mail) devono essere compilati e riposti all'interno del pacco insieme ai campioni.

### **Training e fabbisogno formativo del laboratorio cliente:**

Quando si acquisisce una nuova clinica (fare riferimento al paragrafo 2.2), viene eseguito un training agli embriologi sui processi di biopsia, lavaggio, tubing ed eventuale lisi cellulare. Successivamente si procede con un test di "convalida" per ogni embriologo coinvolto nella biopsia dell'embrione per PGT-M. Le istruzioni sul training e sul processo di verifica della procedura di biopsia embrionale vengono fornite alla Clinica (IdL 2.4.1 Programma training lab service, Mod. 2.4.1 Fabbisogno formativo service, Instructions - Dry run) o possono essere richieste via e-mail. Un report con il risultato del processo di "verifica" del nuovo embriologo viene rilasciato dopo che i campioni sono stati analizzati e validati dal Lab Manager e dal Direttore del laboratorio. Un nuovo embriologo potrà essere inserito nella pratica clinica solo dopo il completamento con esito positivo della fase di "verifica". In alcuni casi, e dopo approvazione da parte del direttore del laboratorio, il percorso di training del laboratorio cliente non sarà necessario per ogni embriologo che esegue le biopsie embrionali. Ciò include gli embriologi che sono stati precedentemente formati per la biopsia da un laboratorio diagnostico accreditato ISO 15189 (o equivalente).

### **Trasporto al laboratorio:**

Per la fase di pre PGT-M, i campioni di sangue e/o tamponi buccali devono essere inviati al laboratorio Igenomix Italia tramite corriere (TNT, UPS ...) e imballati secondo il requisito di imballaggio P650 e chiaramente etichettati campione UN3373, come indicato nella IdL 3.7.6\_Istruzioni per imballo e invio campione.

Per il test PGT-M, la clinica può contattare il laboratorio che organizzerà il ritiro dei campioni. Per la spedizione deve essere utilizzato il kit per PGT fornito da IGENOMIX Italia.

Nota: rimuovere le "confezioni di ghiaccio" dal kit una volta ricevuto e conservarle a -20°C fino a quando non vengono inviate insieme ai campioni in laboratorio.

Per ulteriori dettagli su come inviare i campioni, consultare le istruzioni incluse nel sito Web di IGENOMIX Italia o contattare il servizio di assistenza clienti di IGENOMIX Italia.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



## Tempi di consegna del referto:

Tempo di consegna (TAT): le tempistiche di refertazione sono di 40 giorni lavorativi per il test pre PGT-M e di 10 giorni lavorativi per il test PGT-M, dalla ricezione dei campioni.

## Refertazione:

Per il test pre PGT-M è possibile ottenere i seguenti risultati:

- Il test PGT-M per diagnosticare la patologia \_\_\_\_\_ è possibile per questa coppia basandosi su analisi diretta di mutazione e valutazione di marcatori polimorfici fiancheggiati (SNPs).
- Il test PGT-M per diagnosticare la patologia \_\_\_\_\_ è possibile per questa coppia basandosi su valutazione di marcatori polimorfici (SNPs) fiancheggiati la regione deleta/espansa/duplicata.
- La PGT-M per diagnosticare la patologia \_\_\_\_\_ non è fattibile.

Per il test PGT-M è possibile ottenere i seguenti risultati, per ciascun embrione:

- **Normale:** l'embrione non ha ereditato l'aplotipo "a rischio". Tale embrione non presenta la/le mutazione/i genetica indicata.
- **Portatore:** l'embrione ha ereditato uno degli aplotipi "a rischio" dei genitori. Tale embrione è portatore della mutazione genetica indicata, così come il genitore portatore.
- **Affetto:** l'embrione ha ereditato l'aplotipo "a rischio". Tale embrione risulta affetto dalla malattia indicata.
- **DNA non rilevato:** campione privo di DNA o con DNA degradato.
- **Diagnosi conclusiva assente:** non è stato possibile ottenere un risultato conclusivo a causa di fattori come l'allele drop out (ADO) o il fallimento dell'amplificazione di un allele, contaminazione parentale/esterna, ricombinazione o altri fattori.

## 3.2 TEST GENETICO PREIMPIANTO PER ANEUPLOIDIE (PGT-A)

### Descrizione:

PGT-A è un test genetico che può essere eseguito sugli embrioni durante il trattamento con IVF per lo screening delle anomalie cromosomiche numeriche. Gli embrioni cromosomicamente normali hanno maggiori probabilità di impiantarsi e svilupparsi fino a termine. Il test PGT-A aiuta i medici e i pazienti sottoposti a IVF a decidere quali embrioni trasferire. Questo test permette di analizzare tutti i 24 cromosomi e di valutare il numero di copie cromosomiche mediante Next Generation Sequencing (NGS).

### Prerequisiti per accettare un caso di PGT-A:

Non sono necessari prerequisiti specifici per accettare un caso di PGT-A. Indicazioni specifiche e informazioni cliniche rilevanti possono essere riportate nel modulo di richiesta del test.



### **Requisiti del campione:**

Per il test PGT-A sono necessarie 5-6 cellule di trofoectoderma ottenute da blastocisti nei giorni 5, 6 o 7 dello sviluppo embrionale. La soluzione utilizzata per lavare e fare il tubing delle cellule biotiche è fornita dal laboratorio. Le cellule sottoposte a biopsia devono essere raccolte in provette da microcentrifuga sterili da 0,2 ml fornite dal laboratorio. Il tappo di queste provette deve essere etichettato con le iniziali della paziente femminile seguite dal numero dell'embrione e il corpo delle provette deve essere siglato con il "Numero paziente univoco/ID della coppia" seguito dal numero dell'embrione. Tutte le provette da 0,2 ml devono essere collocate in un "rack porta provettine" (fornito dal laboratorio) con il coperchio etichettato con il nome, la data di nascita e il numero ID univoco della paziente. Il "rack porta provettine" a sua volta viene inserito in un sacchetto di plastica sterile all'interno di un dispositivo di raffreddamento con "siberini" fornito anch'esso dal laboratorio. Ulteriori informazioni su come preparare i campioni si trovano nella "IdL 3.7.11 - Protocollo di loading per pgt" che viene fornita al laboratorio cliente durante il percorso di training. Il "Foglio di biopsia dell'embrione" e il "Modulo di richiesta del test" (che possono essere richiesti via e-mail) devono essere compilati e riposti all'interno del pacco insieme ai campioni.

### **Training e fabbisogno formativo del laboratorio cliente:**

Quando si acquisisce una nuova clinica (fare riferimento al paragrafo 2.2), viene eseguito un training agli embriologi sui processi di biopsia, lavaggio e tubing della biopsia embrionale. Successivamente si procede con un test di "convalida" per ogni embriologo coinvolto nella biopsia dell'embrione per PGT-M. Le istruzioni sul training e sul processo di verifica della procedura di biopsia embrionale vengono fornite alla Clinica (IdL 2.4.1 Programma training lab service, Mod. 2.4.1 Fabbisogno formativo service, Instructions - Dry run) o possono essere richieste via e-mail. Un report con il risultato del processo di "verifica" del nuovo embriologo viene rilasciato dopo che i campioni sono stati analizzati e validati dal Lab Manager e dal Direttore del laboratorio. Un nuovo embriologo potrà essere inserito nella pratica clinica solo dopo il completamento con esito positivo della fase di "verifica". In alcuni casi, e dopo approvazione da parte del direttore del laboratorio, il percorso di training del laboratorio cliente non sarà necessario per ogni embriologo che esegue le biopsie embrionali. Ciò include gli embriologi che sono stati precedentemente formati per la biopsia da un laboratorio diagnostico accreditato ISO 15189 (o equivalente).

### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica può contattare il laboratorio che organizzerà il ritiro dei campioni. Per la spedizione deve essere utilizzato il kit per PGT fornito da IGENOMIX Italia.

Nota: rimuovere le "confezioni di ghiaccio" dal kit una volta ricevuto e conservarle a -20°C fino a quando non vengono inviate insieme ai campioni in Laboratorio

Per ulteriori dettagli su come inviare i campioni, consultare le istruzioni incluse nel sito Web di IGENOMIX Italia o contattare il servizio di assistenza clienti di IGENOMIX Italia.

### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del report (TAT) è di 10 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

### **Refertazione:**

Il software Ion Reporter genera un grafico che rappresenta la variazione del numero di copie (CNV) del campione analizzato rispetto alla baseline bioinformatica di riferimento generata da vari campioni normali. È possibile ottenere i seguenti risultati, per ciascun embrione:



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



- **Normale/euploide:** Un embrione è considerato "normale/euploide" quando il grafico non mostra deviazioni rispetto alla baseline bioinformatica di riferimento in nessuno dei 24 cromosomi esaminati.
- **Aneuploide:** Un embrione è considerato "aneuploide" quando viene rilevata un'aneuploidia [guadagno o perdita di un cromosoma (1-22, X, Y)] o un'aneuploidia parziale [guadagno o perdita di una parte del braccio cromosomico (p, q)] come risultato di una deviazione dalla baseline bioinformatica di riferimento con punti che si spostano verso l'alto per un guadagno (+) e verso il basso per una perdita (-).
- **Aneuploide complesso:** Un embrione è considerato "aneuploide complesso" quando vengono rilevate più di 2 aneuploidie nel campione fornito.
- **DNA non rilevato:** Si ottiene quando un embrione risulta privo di diagnosi conclusiva a causa di una insufficiente quantità di DNA nel campione fornito.
- **Non informativo:** Quando un risultato affidabile non può essere raggiunto con un alto grado di attendibilità, il cromosoma verrà segnalato come "non informativo".

### 3.3 TEST GENETICO PREIMPIANTO PER RIARRANGIAMENTI STRUTTURALI (PGT-SR)

#### Descrizione:

PGT-SR è un test genetico per rilevare specifici sbilanciamenti cromosomici negli embrioni derivanti da riarrangiamenti cromosomici parentali. Il test rileva anche anomalie cromosomiche numeriche non associate al riarrangiamento cromosomico dei genitori. Il test PGT-SR eseguito presso il laboratorio Igenomix Italia utilizza la tecnologia NGS ed è stato validato per rilevare anomalie cromosomiche  $\geq 6$  Mb.

#### Prerequisiti per accettare un caso di PGT-SR:

Prima di accettare un caso di PGT-SR, è richiesto il "report genetico" (cariotipo) che identifichi chiaramente il riarrangiamento cromosomico da testare, in modo tale che il personale del laboratorio possa valutarne la fattibilità. In alcuni casi, potrebbe essere necessario eseguire il test Pre-PGT-SR su un campione di DNA (estratto da sangue periferico) del soggetto portatore del riarrangiamento cromosomico per confermare la fattibilità diagnostica del caso mediante tecnologia NGS.

#### Requisiti del campione:

**Per pre-PGT-SR (se richiesto),** sono necessari 4 mL di sangue periferico (in provette EDTA) del soggetto portatore dell'anomalia cromosomica strutturale (e/o altri membri della famiglia, se richiesti). Sulla base dei risultati del test pre-PGT-SR, il laboratorio informerà via e-mail la clinica di PMA circa la fattibilità del test PGT-SR e rilascerà un referto.

**Per PGT-SR,** sono necessarie 5-6 cellule di trofoectoderma ottenute da blastocisti nei giorni 5, 6 o 7 dello sviluppo embrionale. La soluzione utilizzata per lavare e fare il tubing delle cellule bioptiche è fornita dal laboratorio. Le cellule sottoposte a biopsia devono essere raccolte in provette da microcentrifuga sterili da 0,2 ml fornite dal laboratorio. Il tappo di queste provette deve essere etichettato con le iniziali della paziente femminile seguite dal numero dell'embrione e il corpo delle provette deve essere siglato con il "Numero paziente univoco/ID della coppia" seguito dal numero dell'embrione. Tutte le provette da 0,2 ml devono essere collocate in un "rack porta provettine" (fornito dal laboratorio) con il coperchio etichettato con il nome, la data di nascita e il numero ID univoco della paziente. Il "rack porta provettine" a sua volta



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements





viene inserito in un sacchetto di plastica sterile all'interno di un dispositivo di raffreddamento con "siberini" fornito anch'esso dal laboratorio. Ulteriori informazioni su come preparare i campioni si trovano nella "IdL 3.7.11 - Protocollo di loading per pgt" che viene fornita al laboratorio cliente durante il percorso di training. Il "Foglio di biopsia dell'embrione" e il "Modulo di richiesta del test" (che possono essere richiesti via e-mail) devono essere compilati e riposti all'interno del pacco insieme ai campioni.

#### **Training e fabbisogno formativo del laboratorio cliente:**

Quando si acquisisce una nuova clinica (fare riferimento al paragrafo 2.2), viene eseguito un training agli embriologi sui processi di biopsia, lavaggio e tubing della biopsia embrionale. Successivamente si procede con un test di "convalida" per ogni embriologo coinvolto nella biopsia dell'embrione per PGT-M. Le istruzioni sul training e sul processo di verifica della procedura di biopsia embrionale vengono fornite alla Clinica (IdL 2.4.1 Programma training lab service, Mod. 2.4.1 Fabbisogno formativo service) o possono essere richieste via e-mail. Un report con il risultato del processo di "verifica" del nuovo embriologo viene rilasciato dopo che i campioni sono stati analizzati e validati dal Lab Manager e dal Direttore del laboratorio. Un nuovo embriologo potrà essere inserito nella pratica clinica solo dopo il completamento con esito positivo della fase di "verifica". In alcuni casi, e dopo approvazione da parte del direttore del laboratorio, il percorso di training del laboratorio cliente non sarà necessario per ogni embriologo che esegue le biopsie embrionali. Ciò include gli embriologi che sono stati precedentemente formati per la biopsia da un laboratorio diagnostico accreditato ISO 15189 (o equivalente).

#### **Trasporto in laboratorio:**

Per la fase di **pre PGT-SR**, i campioni di sangue devono essere inviati al laboratorio Igenomix Italia tramite corriere (TNT, UPS ...) e imballati secondo il requisito di imballaggio P650 e chiaramente etichettati campione UN3373.

**Per PGT-SR** La clinica può contattare il laboratorio che organizzerà il ritiro dei campioni. Per la spedizione deve essere utilizzato il kit per PGT fornito da IGENOMIX Italia.

Nota: rimuovere le "confezioni di ghiaccio" dal kit una volta ricevuto e conservarle a -20°C fino a quando non vengono inviate insieme ai campioni in laboratorio.

Per ulteriori dettagli su come inviare i campioni, consultare le istruzioni incluse nel sito Web di IGENOMIX Italia o contattare il servizio di assistenza clienti di IGENOMIX Italia.

#### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 20 giorni lavorativi dalla ricezione del campione per il test pre PGT-SR e di 10 giorni lavorativi per il test PGT-SR.

#### **Refertazione:**

Per **pre PGT-SR** è possibile ottenere i seguenti risultati:

- Il riarrangiamento cromosomico analizzato può essere identificato mediante tecnologia NGS, pertanto sarà possibile offrire il test PGT-SR per questa coppia.
- Il riarrangiamento cromosomico analizzato NON può essere identificato mediante tecnologia NGS, pertanto NON sarà possibile offrire il test PGT-SR per questa coppia.



Per **PGT-SR**, il software Ion Reporter genera un grafico che rappresenta la variazione del numero di copie (CNV) del campione analizzato rispetto alla baseline bioinformatica di riferimento generata da vari campioni normali.

- **Normale/Bilanciato:** Un embrione è considerato "Normale/Bilanciato" quando il grafico non mostra deviazioni rispetto alla baseline bioinformatica di riferimento in nessuno dei 24 cromosomi esaminati. Il test non può rilevare anomalie strutturali a meno che non sia presente uno sbilanciamento nel materiale genetico; pertanto, non può distinguere un embrione che non ha ereditato un riarrangiamento cromosomico da un embrione che ha ereditato il riarrangiamento cromosomico bilanciato.
- **Aneuploide:** Un embrione è considerato "aneuploide" quando viene rilevata un'aneuploidia [guadagno o perdita di un cromosoma (1-22, X, Y)] o un'aneuploidia parziale [guadagno o perdita di una parte del braccio cromosomico (p, q)] come risultato di una deviazione dalla baseline bioinformatica di riferimento con punti che si spostano verso l'alto per un guadagno (+) e verso il basso per una perdita (-).
- **Sbilanciato:** Un embrione è considerato come "sbilanciato" quando vengono rilevati degli sbilanciamenti derivati dal riarrangiamento cromosomico dei genitori. Lo sbilanciamento viene rilevato come risultato di una deviazione dalla baseline bioinformatica di riferimento con punti che si spostano verso l'alto per un guadagno e verso il basso per una perdita.
- **Aneuploide complesso:** Un embrione è considerato "aneuploide complesso" quando vengono rilevate più di 2 aneuploidie nel campione fornito.
- **DNA non rilevato:** Si ottiene quando un embrione risulta privo di diagnosi conclusiva a causa di una insufficiente quantità di DNA nel campione fornito.
- **Non informativo:** Quando un risultato affidabile non può essere raggiunto con un alto grado di attendibilità, il cromosoma verrà segnalato come "non informativo".

### 3.4 TEST GENETICO PREIMPIANTO PER PLOIDIA

#### Descrizione:

In aggiunta al test PGT-A standard di primo livello, è possibile eseguire un test PGT-A di secondo livello per rilevare anche alterazioni della ploidia sulla stessa biopsia embrionale. Per alterazioni di ploidia si intendono variazioni del numero di assetti cromosomici rispetto al normale 2N (46 cromosomi totali, 2 copie di ciascun cromosoma, una di origine materna e una di origine paterna). Le variazioni del numero di assetti cromosomici possono essere: aploidia 1N (una singola copia di ciascun cromosoma per un totale di 23 cromosomi) o poliploidia (triploidia 3N, tetraploidia 4N). Tali variazioni comportano quadri estremamente anomali e compromettono lo sviluppo embrionale. La tecnologia sviluppata per indagare la ploidia embrionale è basata su SNP microarray dove sono indagati i rapporti genotipici di circa 300.000 varianti polimorfiche sparse in tutto il genoma umano.

#### Prerequisiti per accettare un caso di ploidia:

Per eseguire il test ploidia è necessario fornire o meno il consenso addizionale sugli eventuali embrioni che risultano da ovociti con fecondazione atipica o in presenza di specifiche indicazioni cliniche.



### **Requisiti del campione:**

Dapprima sarà effettuato il test di primo livello (PGT-A o PGT-SR) e successivamente, per i soli campioni risultati euploidi/bilanciati, verrà effettuata l'analisi di secondo livello (Test ploidia). L'analisi di secondo livello non richiede una seconda biopsia embrionale in quanto la tecnologia sviluppata permette di eseguire il test ploidia sullo stesso campione utilizzato nel test di primo livello.

### **Trasporto in laboratorio:**

Consultare la medesima sezione per i test di PGT-A e PGT-SR.

### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del report (TAT) richiede una tempistica di refertazione più lunga rispetto all'analisi di primo livello (20 giorni lavorativi).

### **Refertazione:**

- **Sezione I:** poliploide, aploide, triploide o non analizzato;
- **Sezione II:** euploide-bilanciato, aneuploide, aneuploide complesso, DNA non rilevato o non informativo.

## 3.5 TROMBOFILIA EREDITARIA §

### **Descrizione:**

I fenomeni di abortività in gravidanza sono purtroppo eventi non rari. Insieme alle alterazioni ormonali, immunitarie, uterine, e cromosomiche, note come possibili cause di aborti ripetuti, esiste una nuova classe di anomalie genetiche che riguardano i fattori della coagulazione del sangue.

Le donne che soffrono di trombofilia ereditaria (eccessiva coagulazione causata da un'anomalia genetica) sono infatti la categoria più a rischio di aborto uterino a gravidanza avanzata. Nella maggior parte dei casi la morte del feto è causata da alterazioni geniche di uno o più fattori della coagulazione del sangue che determinano l'instaurarsi di una trombosi placentare, caratterizzata da un'ostruzione dei vasi sanguigni placentari.

I geni, oggi noti, di suscettibilità alla trombosi sono delle varianti geniche (mutazioni di una singola base del DNA) che presentano una tale frequenza nella popolazione da essere considerate delle varianti polimorfiche. I geni presi in considerazione sono quelli relativi al Fattore V di Leiden, al Fattore II della coagulazione (protrombina) ed il gene MTHFR (Metilentetraidrofolatooreduttasi).

Lo studio delle varianti geniche di questi tre geni è indicato in:

- Soggetti con precedenti episodi di tromboembolismo venoso o trombosi arteriosa,
- Donne che intendono assumere contraccettivi orali,
- Donne con precedenti episodi di trombosi in gravidanza,
- Donne con poliabortività,
- Donne con precedente figlio con DTN (difetti tubo neurale),
- Gestanti con ritardo di crescita intrauterino (IUGR), tromboflebite o trombosi placentare,
- Soggetti diabetici.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



Dal punto di vista della trasmissione genetica, la maggior parte dei difetti trombofilici si presenta in forma eterozigote e si trasmette con modalità autosomica dominante a penetranza incompleta. Le persone affette hanno una possibilità su due di trasmettere la predisposizione alla malattia ai figli, indipendentemente dal sesso. In gravidanza, una condizione genetica di eterozigosi o omozigosi per uno o più di questi geni è considerata predisponente all'aborto spontaneo.

#### FATTORE V di LEIDEN

Il fattore V attivato è un cofattore essenziale per l'attivazione della protrombina (fattore II) a trombina. Il suo effetto pro-coagulante è normalmente inibito dalla Proteina C attivata che taglia il fattore V attivato in tre parti. Un sito di taglio è localizzato nell'aminoacido arginina alla posizione 506. Una mutazione del gene che codifica per il fattore V, a livello della tripletta nucleotidica che codifica per l'arginina in 506 (nucleotide 1691), con sostituzione di una G (guanina) con una A (adenina), comporta la sostituzione dell'arginina con un altro aminoacido, la glutammina, che impedisce il taglio da parte della Proteina C attivata. Ne consegue una resistenza alla proteina C attivata (APC) nei test di laboratorio ed una maggiore attività pro-coagulante del fattore V attivato che predispone alla trombosi. Tale variante G1691A è definita variante di Leiden (località in cui fu scoperta), ed ha una frequenza genica dell' 1,4-4,2% in Europa con una frequenza di portatori eterozigoti in Italia pari al 2-3%, mentre l'omozigosità per tale mutazione ha un'incidenza di 1:5000. I soggetti eterozigoti hanno un rischio 8 volte superiore di sviluppare una trombosi venosa, mentre gli omozigoti hanno un rischio pari ad 80 volte. Tale evento trombotico è favorito in presenza di altre condizioni predisponenti quali la gravidanza, l'assunzione di contraccettivi orali (rischio aumentato di 30 volte negli eterozigoti e di alcune centinaia negli omozigoti), gli interventi chirurgici. In gravidanza una condizione genetica di eterozigosi per il Fattore Leiden è considerata predisponente all'aborto spontaneo, all'eclampsia, ai difetti placentari, alla Sindrome HELLP (emolisi, aumento enzimi epatici, piastrinopenia). Tali manifestazioni sarebbero legate a trombosi delle arterie spirali uterine con conseguente inadeguata perfusione placentare. I soggetti portatori di mutazione del Fattore V di Leiden dovrebbero pertanto sottoporsi a profilassi anticoagulativa in corso di gravidanza o in funzione di interventi chirurgici ed evitare l'assunzione di contraccettivi orali.

#### FATTORE II (Protrombina)

La protrombina o fattore II della coagulazione svolge un ruolo fondamentale nella cascata coagulativa in quanto la sua attivazione in trombina porta alla trasformazione del fibrinogeno in fibrina e quindi alla formazione del coagulo. E' stata descritta una variante genetica comune nella regione non trascritta al 3' del gene che è associata ad elevati livelli di protrombina funzionale nel plasma e conseguente aumentato rischio di trombosi, specie di tipo venosa. Trattasi di una sostituzione di una G (guanina) con una A (adenina) alla posizione 20210 (G20210A), una regione non trascritta del gene dalla parte del 3' che è sicuramente coinvolta nella regolazione genica post-trascrizionale, quale la stabilità dell'RNA messaggero o con una maggiore efficienza di trascrizione del messaggero stesso. La frequenza genica della variante è bassa (1,0-1,5%) con una percentuale di eterozigoti del 2-3%. L'omozigosi è rara. Per gli eterozigoti c'è un rischio aumentato di 3 volte di sviluppare una trombosi venosa, di 5 volte per l'ictus ischemico, di 5 volte per infarto miocardico in donne giovani, di 1,5 volte per gli uomini, di 7 volte nei diabetici, di 10 volte per trombosi delle vene cerebrali e di 149 volte in donne che assumono contraccettivi orali.

#### MTHFR (Metilentetraidrolotoreduttasi)

La metilentetraidrolotoreduttasi (MTHFR) è un enzima coinvolto nella trasformazione del 5-10 metilentetraidrolotolo in 5 metilentetraidrolotolo che serve come donatore di metili per la rimetilazione della omocisteina a metionina, tramite l'intervento della vitamina B12. Rare mutazioni (trasmesse con modalità autosomica recessiva) possono causare la deficienza grave di MTHFR con attività enzimatica inferiore al 20% e comparsa di omocistinemia ed omocistinuria e bassi livelli plasmatici di acido folico. La sintomatologia clinica è grave con ritardo dello sviluppo psico-motorio e massivi fenomeni trombotici. Accanto alla deficienza grave di MTHFR è stato identificato un polimorfismo genetico comune, dovuto alla sostituzione di



una C (citosina) in T (timina) al nucleotide 677 (C677T), che causa una sostituzione di una alanina in valina nella proteina finale ed una riduzione dell'attività enzimatica della MTHFR pari al 50%, e fino al 30% in condizioni di esposizione al calore (variante termolabile). Tale variante comporta livelli elevati nel sangue di omocisteina specie dopo carico orale di metionina. La frequenza genica in Europa della mutazione è del 3-3,7%, il che comporta una condizione di eterozigosi in circa il 42-46% della popolazione e di omozigosi pari al 12-13%. Recentemente, una seconda mutazione del gene MTHFR (A1298C) è stata associata ad una ridotta attività enzimatica (circa il 60% singolarmente; circa il 40% se presente in associazione alla mutazione C677T). Questa mutazione, in pazienti portatori della mutazione C677T, determina un'aumento dei livelli ematici di omocisteina. Livelli aumentati di omocisteina nel sangue sono oggi considerati fattore di rischio per malattia vascolare (trombosi arteriosa), forse attraverso un meccanismo mediato dai gruppi sulfidrilici presenti sulla parete endoteliale dei vasi. Inoltre, in condizioni di carenza alimentare di acido folico, la variante termolabile della MTHFR porta a livelli molto bassi l'acido folico nel plasma ed è pertanto considerato un fattore di rischio per i difetti del tubo neurale nelle donne in gravidanza. Condizioni di eterozigosi doppia, specie con la variante Leiden del fattore V o della variante 20210 della protrombina, possono aumentare il rischio relativo per il tromboembolismo venoso, già alto per la presenza dell'altra variante.

**Descrizione tecnica dell'analisi:**

La diagnosi molecolare viene condotta effettuando l'analisi di mutazione dei geni del fattore V di Leiden (variante Arg 506 Gln - G->A in posizione nucleotidica 1691, codone 506), del fattore II (variante G20210A al 3' del gene) e dell'MTHFR (Metilentetraidrofolatooreduttasi, variante termolabile C677T e 1298 A/C). Per la ricerca delle citate mutazioni si opera mediante una reazione enzimatica di amplificazione del DNA, conosciuta come Polymerase Chain Reaction (PCR) in real time, che consente di ottenere in tempo reale il genotipo della regione analizzata.

**Refertazione:**

È possibile ottenere i seguenti risultati:

- Assenza della mutazione \_\_\_\_ nel gene \_\_\_\_ : genotipo A/A
- Presenza in eterozigosi della mutazione \_\_\_\_ nel gene \_\_\_\_ : genotipo A/a
- Presenza in omozigosi della mutazione \_\_\_\_ nel gene \_\_\_\_ : genotipo a/a

**3.6 ANALISI FIBROSI CISTICA §**

**Descrizione:**

La fibrosi cistica (FC) è una grave malattia ereditaria, cronica, evolutiva; un bambino ogni 2700 nasce con questa malattia. Nei pazienti affetti da FC le secrezioni delle ghiandole esocrine, (cioè i liquidi biologici come il muco, il sudore, la saliva lo sperma, i succhi gastrici) sono molto più dense e viscosi del normale.

I problemi più gravi sono a carico dei polmoni, dove il muco estremamente denso può causare problemi respiratori e infezioni. Anche i succhi pancreatici sono più densi del normale, causando problemi digestivi. Infine, i pazienti affetti da FC sono scarsamente fertili, a causa dell'eccessiva densità del loro liquido spermatico e delle secrezioni vaginali. La malattia si manifesta per lo più entro i primi anni di vita, talora più tardivamente, e può esprimersi con maggiore o minore gravità in individui diversi. Pertanto, viene trattata con terapie che variano da soggetto a soggetto, costituite per lo più da fisioterapia, antibiotici, aerosolterapia, estratti pancreatici e vitamine. Il decorso e la prognosi della fibrosi cistica sono



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



notevolmente migliorati negli ultimi decenni, soprattutto per i pazienti diagnosticati precocemente. Nonostante ciò, allo stato attuale la guarigione non è possibile e la durata media della vita è comunque ancora ridotta rispetto a quella della popolazione generale.

#### Come si trasmette la Fibrosi Cistica?

La FC è una malattia che si trasmette con modalità autosomica recessiva, determinata da alterazioni del DNA, chiamate "mutazioni", che insorgono in entrambe le copie del gene CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator). I geni vengono ereditati in coppie, derivando uno dal padre ed uno dalla madre. Negli individui malati entrambe le copie del gene per la FC sono alterate. Gli individui che possiedono una sola copia del gene alterato e una normale sono invece privi di ogni sintomo, ma sono portatori sani. Due genitori portatori sani hanno una probabilità del 25 % di avere figli affetti da FC. Dalla stessa unione i figli avranno una probabilità su due (50%) di nascere portatori sani, come i genitori.

#### Come si esegue l'analisi genetica per la Fibrosi Cistica?

L'unico modo per identificare i portatori sani è quello di effettuare un test sul DNA alla ricerca di mutazioni nel gene della FC. L'analisi però è complicata dal fatto che esistono numerosissime mutazioni (ad oggi oltre 900) che causano la FC; molte di esse sono rare, molte altre ancora sconosciute. Generalmente, il test genetico viene eseguito tenendo conto di 31-200 mutazioni (a seconda del tipo di analisi effettuata), scelte fra le più frequenti nell'area geografica in questione e che nel complesso permette di identificare circa 90 per cento dei portatori. Il test genetico non è in grado di identificarle tutte. In casi particolari, adeguatamente valutati dal genetista, può essere eseguito anche un test genetico che prevede l'analisi di mutazione dell'intero gene, con conseguente ricerca di tutte le mutazioni sinora scoperte. Il gene responsabile della malattia è stato identificato e localizzato sul cromosoma 7. Il gene codifica per una proteina chiamata CFTR (Cystic fibrosis transmembrane regulator). La proteina CFTR ha un ruolo importante nel regolare la quantità di cloro che viene secreto insieme ai liquidi biologici. Nei pazienti affetti da FC il gene della CFTR è alterato, in genere a causa di mutazioni puntiformi. Queste alterazioni fanno sì che la proteina non venga più prodotta, o che venga prodotta ma in una forma non funzionale. A causa del deficit della proteina, le secrezioni contengono una scarsa quantità di acqua di sali, che ne modifica drasticamente le proprietà.

#### Fibrosi Cistica ed infertilità

Una caratteristica ricorrente tra i maschi con Fibrosi Cistica è l'infertilità, che si associa alla patologia ostruttiva e spesso all'agenesia bilaterale congenita dei vasi deferenti (CBAVD). Questo difetto costituisce circa il 15% delle cause di sterilità maschile che nel 80% dei casi è riconducibile a mutazioni di del gene CFTR. Alcune di queste mutazioni come R117H, N1303K e G551D sono molto comuni nei pazienti con CBAVD, in associazione alla Delta F508, che è presente in eterozigoti nel 57% di pazienti maschi.

E' stata anche dimostrata una correlazione tra questa malformazione e una variante allelica polimorfa del gene CFTR, conosciuta come polimorfismo 5T, che mostra una frequenza nei CBAVD circa 4-6 volte superiore rispetto alla popolazione generale. Il polimorfismo consiste in una regione di polipirimidine (polyT) di lunghezza variabile all'interno dell'introne 8 del gene CFTR. La variabilità si manifesta sotto forma di tre alleli, chiamati 5T, 7T, 9T, a seconda del numero di timine presenti. In particolare, l'allele 5T è associato ai cromosomi mutati dei maschi con CBAVD. Questo polimorfismo intronico regola il meccanismo molecolare del processo di maturazione dell'RNA messaggero (mRNA) e quindi la quantità di trascritto CFTR all'interno della cellula. La presenza di un allele 5T si accompagna ad una sintesi di mRNA che manca dell'esone 9 (ex9-) per il 90%, l'assetto 7T presenta il 25% di mRNA ex9- mentre in quello 9T il 90% dell'mRNA è normale. Si ipotizza che una quantità ridotta di mRNA provochi questa forma incompleta o variante di FC, che viene trasmessa da genitori eterozigoti.



**Descrizione tecnica dell'analisi:**

L'analisi di mutazione del DNA viene condotta operando inizialmente una reazione enzimatica di amplificazione del DNA, conosciuta come Polymerase Chain Reaction (PCR); successivamente parte dei prodotti di PCR così ottenuti vengono sottoposti a metodica LIPA.

**Refertazione:**

A seguito dell'analisi genetica per Fibrosi Cistica si possono ottenere tre tipi di risultati:

- l'analisi può individuare nel DNA del paziente la presenza di una mutazione a livello di una copia del gene CFTR, mentre l'altra copia è normale. Si dice che il soggetto risulta portatore in eterozigosi di quella mutazione, e questo risultato significa che il paziente è un PORTATORE SANO.
- l'analisi può individuare nel DNA del paziente la presenza di mutazioni in entrambe le copie del gene CFTR. Si dice che il soggetto risulta eterozigote composto (due mutazioni diverse) o omozigote (due mutazioni uguali) per quella/e mutazione/i; questo risultato significa che il paziente è un AFFETTO da FC.
- l'analisi genetica non individua nel DNA del paziente la presenza di mutazioni del gene CFTR. Si dice che il soggetto risulta "NEGATIVO". Questo risultato significa che il soggetto ha una probabilità diminuita, rispetto a prima dell'analisi, di essere un portatore. Non è possibile che l'analisi escluda in assoluto la probabilità di essere un portatore, perchè non è possibile escludere la presenza di tutte le numerosissime mutazioni del gene della fibrosi cistica.

E' importante ricordare che:

- la probabilità di essere un portatore di fibrosi cistica è maggiore per un soggetto che sia parente di un malato o di un portatore. In questo caso è necessario prima identificare la mutazione del malato o del portatore presente in famiglia (mutazione "familiare") e poi ricercarla nel parente. Se il parente risulta non avere nel suo DNA la mutazione familiare, la sua probabilità di essere portatore diventa estremamente bassa.
- la probabilità di essere portatore di fibrosi cistica è minore ma comunque presente anche nel soggetto che non è parente di un malato o di un portatore. In questo caso, per chi si sottopone alla ricerca delle più frequenti mutazioni del gene della fibrosi cistica e non risulta avere nel suo DNA nessuna di queste, la probabilità di essere portatore diventa bassa (anche se non zero) (Tabella 1). Frequenza stimata di portatori in Italia: 1:25 (Lemma W. et al. N. Engl. J. Med. 1990. 322:295).

% di mutazioni FC identificabili	Probabilità residua di essere portatore se il test è negativo	Rischio di avere un figlio affetto da FC se	
		un paziente della coppia è portatore/l'altro negativo al test	entrambi i pazienti sono negativi al test
0	1:25	non applicabile	1:2.500
70	1:82	1:331	1:27.400
75	1:99	1:396	1:39.200
80	1:124	1:494	1:61.000
85	1:165	1:661	1:109.200
90	1:246	1:984	1:242.100
95	1:491	1:1964	1:964.400

Tabella 1: Rischio di fibrosi cistica.



### 3.7 TEST GENETICO CARRIER SCREENING (CGT Essential)

#### **Descrizione:**

Il Carrier Genetic Test (CGT) è un test di screening che mira a identificare individui e coppie ad aumentato rischio di concepire bambini affetti da una malattia monogenica ereditaria. La conoscenza di questo rischio può influenzare la decisione di una coppia di concepire e/o incoraggiare la coppia ad adottare misure preventive, tra cui test genetici preimpianto per malattia monogenica (PGT-M) e test genetici prenatali, o ad effettuare fecondazione assistita con gameti provenienti da donatori. Il Test CGT Essential analizza le malattie più frequenti e gravi nella popolazione secondo le più recenti raccomandazioni delle società scientifiche (American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics; ACOG Committee Opinion No. 690. Obstet Gynecol. 2017).

#### **Descrizione tecnica dell'analisi:**

Il Test si basa su 3 differenti tecniche (Sequencing in NGS, Copy Number Variation e Analisi di Curve di Melting in Real Time PCR):

- Sequencing in NGS per le patologie dovute a mutazioni puntiformi o piccole ins/del. Per tale analisi viene effettuato il sequenziamento completo di 17 geni tramite NGS IonS5 (ThermoFisher).
- Copy Number Variation per le patologie causate da delezioni di porzioni geniche. Metodo basato sulla realizzazione, in duplex, di qPCR con primers e sonde specifiche sia per le regioni di interesse che per il gene di controllo RNase P. Nel test è sempre incluso un DNA controllo (calibratore) con 2 copie della regione di interesse e il calcolo del numero di copie della regione di interesse è realizzato applicando il metodo comparativo  $-\Delta\Delta Ct$ .
- Analisi di Curva di Melting per la Sindrome dell'X-fragile, patologia causata dall'espansione delle triplette CGG (> 54 ripetizioni) nella regione 5'UTR del gene FMR1. Metodo di analisi post-PCR dell'amplificato basato sull'uso del fluoroforo SYBR Green eseguito con tecnologia CE/IVD.

#### **Requisiti del campione:**

2x 4 ml di sangue periferico in provette con EDTA fornite dal laboratorio. Il "Modulo di richiesta del test" (che può essere richiesto tramite e-mail) deve essere compilato e inserito nel kit CGT Essential.

#### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve avvisare il laboratorio il giorno prima del prelievo, così il laboratorio potrà organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto è a temperatura ambiente.

#### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 20 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

#### **Refertazione:**

è possibile ottenere i seguenti risultati:

- NEGATIVO: Il paziente è NEGATIVO per tutte le varianti analizzate.
- POSITIVO: Il paziente è portatore di \_\_\_\_, Gene: \_\_\_\_, cHGVS: \_\_\_\_, pHGVS: \_\_\_\_, Fenotipo MIM: \_\_\_\_, Ereditarietà: \_\_\_\_, Allele: Het





## 4 TEST IN OUTSOURCING (non rientranti nell'accreditamento ISO 15189)

### 4.1 ANALISI DELLA RICETTIVITÀ ENDOMETRIALE (ERA)

#### **Descrizione:**

Si ritiene che la mancanza di sincronizzazione tra l'embrione pronto per essere impiantato e la recettività dell'endometrio sia una delle cause del ripetuto fallimento dell'impianto. L'ERA è un test che è stato sviluppato e brevettato nel 2009 da IGENOMIX dopo più di 10 anni di ricerca e sviluppo. Il test ERA aiuta a valutare la recettività endometriale della donna e quindi a identificare una "finestra di impianto" da una prospettiva molecolare. Il test analizza i livelli di espressione di 248 geni legati allo stato di recettività endometriale, utilizzando il sequenziamento dell'RNA (NGS) su materiale bioptico dall'endometrio. Dopo l'analisi, uno specifico predittore computazionale classifica i campioni in base al loro profilo di espressione come "Ricettivo" o "Non ricettivo". Questi dati consentiranno un trasferimento embrionale personalizzato (pET), sincronizzando la recettività endometriale con un embrione preparato per l'impianto.

#### **Requisiti del campione:**

Tessuto endometriale (~ 50mg in massa o ~ 5mm in base alle dimensioni) inserito in una criovial contenente una soluzione di stabilizzazione dell'RNA fornita dal laboratorio. La criovial contenente il campione deve essere refrigerata (4-8 ° C) per almeno 4 ore prima della spedizione. Il "Modulo di richiesta esame" (che può essere richiesto tramite e-mail) deve essere completato e inserito nel kit ERA.

#### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve avvisare il laboratorio almeno il giorno prima della biopsia endometriale, in modo da organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto avverrà in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente.

#### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 10 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

#### **Refertazione:**

I risultati dei test possono essere:

- **Ricettivo (R):** questo profilo di espressione genica è compatibile con un endometrio normale e ricettivo. In questo caso, si consiglia di eseguire un trasferimento di blastocisti seguendo lo stesso protocollo utilizzato durante questo test di analisi della ricettività endometriale (ERA).
- **Ricettivo precoce (PREt):** questo profilo di espressione genica indica che l'endometrio è all'inizio dello stadio ricettivo. In questo caso, si raccomanda la somministrazione di progesterone (ciclo della TOS) o il riposo (ciclo naturale) per 12 ore in più rispetto a quando è stata eseguita la biopsia, prima di eseguire un trasferimento di blastocisti.
- **Ricettivo tardivo (eT):** questo profilo di espressione genica indica che l'endometrio si trova alla fine dello stadio ricettivo. In questo caso, si raccomanda la somministrazione di progesterone (ciclo della TOS) o il riposo (ciclo naturale) per 12 ore in meno rispetto a quando è stata eseguita la biopsia, prima di eseguire un trasferimento di blastocisti.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



- **Proliferativo (F):** questo profilo di espressione genica è concorde con un endometrio in uno stadio proliferativo. Si consiglia di contattare il laboratorio ERA per valutare il protocollo in cui è stata eseguita questa biopsia endometriale.
- **Pre-ricettivo (PREd1 / PREd2):** questo profilo di espressione genica è concorde con un endometrio in uno stadio pre-ricettivo a causa del potenziale spostamento della finestra di impianto. Per alcuni risultati, potrebbe essere necessario analizzare una seconda biopsia nel giorno consigliato per poter fornire una raccomandazione sui tempi di trasferimento.
- **Post-ricettivo (T):** questo profilo di espressione genica è concorde con un endometrio in uno stadio post-ricettivo a causa del potenziale spostamento della finestra di impianto. Per confermare questo risultato, è necessaria l'analisi di una seconda biopsia nel giorno raccomandato.
- **Non informativo:** il profilo analizzato non corrisponde ai profili di espressione genica di controllo presenti nel predittore ERA. Si consiglia di contattare il laboratorio ERA per valutare il protocollo con cui è stata eseguita questa biopsia endometriale.
- **RNA insufficiente:** non è stato possibile determinare il profilo di espressione genica del campione perché non c'era abbastanza materiale genetico. Ciò si verifica nel 2,5% circa dei campioni ricevuti. È richiesta una nuova biopsia endometriale.
- **RNA non valido:** non è stato possibile determinare il profilo di espressione genica del campione a causa della scarsa qualità del materiale genetico ottenuto. Ciò si verifica nel 3% circa dei campioni ricevuti. È richiesta una nuova biopsia endometriale.

Per la maggior parte dei campioni, il referto include una raccomandazione per l'esecuzione di un transfer di embrioni personalizzato. Per alcune pazienti, come indicato sopra, potrebbe essere necessaria un'altra biopsia.

## 4.2 ANALISI METAGENOMICA DEL MICROBIOMA ENDOMETRIALE (EMMA)

### Descrizione:

Un "microbioma endometriale" è composto da vari microrganismi che coesistono in proporzioni equilibrate nella cavità uterina / endometriale. Di questi microrganismi, il batterio Lactobacillus è essenziale nel predire una cavità uterina "sana" quando presente a determinati livelli. Recenti studi hanno dimostrato che la disbiosi della cavità uterina è associata a scarsi risultati riproduttivi nei pazienti con trattamento riproduttivo assistito. Ciò suggerisce che i livelli di Lactobacilli dell'endometrio alterato (e la presenza di altri batteri) potrebbero avere un ruolo nella sterilità.

L'indicazione per EMMA è ricorrente in caso di fallimento dell'impianto (RIF); tuttavia, EMMA può essere utile per qualsiasi paziente che desideri concepire.

L'EMMA può essere eseguita tra i giorni 15 e 25 del ciclo naturale o durante la fase secretoria uterina in un ciclo di terapia ormonale sostitutiva.

EMMA utilizza NGS per analizzare il profilo completo del microbioma endometriale per un campione di tessuto endometriale. Il test si basa sull'estrazione del DNA seguita dall'amplificazione e sequenziamento con barcode del gene dell'RNA ribosomiale 16S batterico.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



## Requisiti del campione:

Tessuto endometriale (~ 50mg in massa o ~ 5mm in base alle dimensioni) inserito in una criovial contenente una soluzione di stabilizzazione dell'RNA fornita dal laboratorio. La criovial contenente il campione deve essere refrigerata (4-8 °C) per almeno 4 ore prima della spedizione. Il "Modulo di richiesta esame" (che può essere richiesto tramite e-mail) deve essere compilato e inserito nel kit EMMA.

## Trasporto in laboratorio:

La clinica deve avvisare il laboratorio almeno il giorno prima della biopsia endometriale, in modo da organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto avverrà in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente.

## Tempi di consegna del referto:

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 10 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

## Refertazione:

I risultati dei test possono essere:

- **Microbioma endometriale normale:** il genere batterico più abbondante nel campione è il Lactobacillus, che indica un microbioma endometriale fisiologicamente sano. La quantità di disbiosi o batteri patogeni rilevati non è significativa. Non è richiesto alcun intervento microbiologico.
- **Microbioma con biomassa ultraleggera:** nel campione endometriale è stata rilevata una bassa quantità di DNA batterico. La quantità di disbiosi o batteri patogeni rilevati non è significativa. È consigliabile aumentare il livello di lattobacilli nel tratto riproduttivo per ottenere un microbiota fisiologicamente sano.
- **Profilo disbiotico:** la percentuale di lattobacilli è inferiore allo standard raccomandato per la salute dell'endometrio. Tuttavia, il livello di batteri disbiotici non è significativo. È consigliabile aumentare il livello di lattobacilli nel tratto riproduttivo per ottenere un microbiota fisiologicamente sano.
- **Microbioma endometriale anormale:** è stata rilevata una quantità significativa nel campione endometriale di DNA da disbiotici o batteri patogeni del tratto riproduttivo. È consigliabile rimuovere gli agenti patogeni e aumentare il livello di lattobacilli nel tratto riproduttivo per ottenere un microbiota fisiologicamente sano.
- **Non informativo:** il campione non soddisfa i requisiti di qualità minimi per essere analizzato. Ciò potrebbe essere dovuto alla contaminazione del campione con batteri della pelle durante la raccolta o la conservazione. È raccomandata l'analisi di un nuovo campione.
- **Campione non valido:** il campione non soddisfa i requisiti di qualità minimi per essere analizzato. Ciò può essere dovuto a materiale di partenza insufficiente per eseguire l'amplificazione e il sequenziamento. La causa più probabile è la degradazione del campione o una biopsia molto piccola. Anche le dimensioni eccessivamente grandi della biopsia endometriale di grandi dimensioni potrebbero comportare una conservazione non ottimale del tessuto e una degradazione. È raccomandata l'analisi di un nuovo campione.

Il referto EMMA include una terapia suggerita, ove appropriato. Per alcune pazienti, potrebbe essere necessaria un'altra biopsia.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



### 4.3 ANALISI DI ENDOMETRITE INFETTIVA CRONICA (ALICE)

#### **Descrizione:**

Il miglior esempio di patologia causata da un "microbioma endometriale" alterato è l'endometrite cronica (CE). CE è un'inflammation persistente del rivestimento endometriale, causata dall'infezione della cavità uterina, principalmente da agenti patogeni batterici. ALICE rileva i batteri più frequenti che causano CE. È un test secondario di EMMA che può essere ordinato come test indipendente. L'indicazione per ALICE è Recurrent Implantation Failure (RIF); tuttavia, EMMA può essere utile per qualsiasi paziente che desideri concepire. ALICE può essere eseguito tra i giorni 15 e 25 del ciclo naturale o durante la fase secretoria uterina in un ciclo di terapia ormonale sostitutiva.

ALICE utilizza NGS per analizzare il profilo completo del microbioma endometriale per un campione di tessuto endometriale e riporta la presenza e la percentuale di specifici batteri patogeni. Il test si basa sull'estrazione del DNA seguita dall'amplificazione e sequenziamento con barcode del gene dell'RNA ribosomiale 16S batterico.

#### **Requisiti del campione:**

Tessuto endometriale (~ 50mg in massa o ~ 5mm in base alle dimensioni) inserito in una criovial contenente una soluzione di stabilizzazione dell'RNA fornita dal laboratorio. La criovial contenente il campione deve essere refrigerata (4-8 ° C) per almeno 4 ore prima della spedizione. Il "Modulo di richiesta esame" (che può essere richiesto tramite e-mail) deve essere completato e inserito nel kit ALICE.

#### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve avvisare il laboratorio almeno il giorno prima della biopsia endometriale, in modo da organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto avverrà in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente.

#### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 10 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

#### **Refertazione:**

Il risultato del test può essere:

- **Negativo per endometrite cronica:** la quantità di DNA da batteri che causano endometrite cronica non è significativa. Non è richiesto alcun intervento microbiologico.
- **Positivo per endometrite cronica:** è stato rilevato DNA di batteri che causano l'endometrite cronica in una quantità significativa nel campione endometriale. L'endometrite cronica è associata a esiti riproduttivi avversi, in particolare a ripetuti fallimenti dell'impianto e aborti ricorrenti. È consigliabile rimuovere gli agenti patogeni e aumentare il livello di lattobacilli nel tratto riproduttivo per ottenere un microbiota fisiologicamente sano.
- **Non informativo:** il campione non soddisfa i requisiti di qualità minimi per poter essere analizzato. Ciò potrebbe essere dovuto alla contaminazione del campione con batteri della pelle durante la raccolta o la conservazione. Raccomandiamo l'analisi di un nuovo campione.
- **Campione non valido:** il campione non soddisfa i requisiti di qualità minimi per poter essere analizzato. Ciò può essere dovuto a materiale di partenza insufficiente per eseguire l'amplificazione e il sequenziamento. È raccomandata l'analisi di un nuovo campione.

Il referto ALICE include una terapia suggerita, ove appropriato. Per alcune pazienti, potrebbe essere necessaria un'altra biopsia.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



#### 4.4 NACE & NACE EXTENDED 24

##### **Descrizione:**

A differenza della diagnosi prenatale invasiva che può rappresentare un rischio per una gravidanza in corso, la NACE è un test di screening genetico prenatale non invasivo. NACE utilizza l'ultima versione della tecnologia di sequenziamento (NGS) per analizzare il DNA fetale rispetto al DNA materno al fine di rilevare alcune anomalie fetali con alta precisione e affidabilità. Esistono due versioni del test: NACE e NACE Extended 24. NACE è progettato per rilevare trisomia fetale 21, 18, 13 e aneuploidie del cromosoma sessuale e NACE Extended 24 è progettato per rilevare aneuploidie cromosomiche fetali in tutti i 24 cromosomi e sei microdelezioni aggiuntive.

##### **Prerequisiti per l'accettazione di un caso di NACE® e NACE®Extended 24:**

Questo test è raccomandato per le gravidanze dalla 10° settimana in poi. Qualsiasi caso che non soddisfi questo requisito verrà respinto.

Altre indicazioni specifiche e informazioni cliniche rilevanti possono essere riportate nel modulo di richiesta del test.

##### **Requisiti del campione:**

1x10 ml di sangue periferico in una provetta Streck (o equivalente) fornita dal laboratorio. Il "Modulo di richiesta esame" (che può essere richiesto tramite e-mail) deve essere compilato e inserito nel kit NACE.

##### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve avvisare il laboratorio almeno il giorno prima del prelievo, in modo da organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto avverrà in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente.

##### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 7 giorni lavorativi (NACE), 6-10 giorni lavorativi (NACE24), 10 giorni lavorativi (NACE Extended 24) dalla ricezione del campione.

##### **Refertazione:**

Possono essere ottenuti i seguenti risultati:

- **Nessuna alterazione rilevata:** la paziente è considerata a basso rischio per le condizioni studiate.
- **Alterazione rilevata:** la paziente è considerata ad alto rischio per le condizioni riportate con un valore predittivo positivo (PPV) molto elevato.
- **Rilevata alterazione sospetta:** la paziente è considerata ad alto rischio per le condizioni riportate con un PPV basso.
- **Non informativo:** non è possibile offrire informazioni sullo stato cromosomico della gravidanza dal sangue materno a causa della qualità inadeguata e / o della quantità di DNA fetale derivato.
- **Sesso del feto** (cromosomi sessuali): nelle gravidanze singole, viene riportato sesso maschile o femminile.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



#### 4.5 TEST GENETICO CARRIER SCREENING (CGT PLUS E CGT EXOME)

##### **Descrizione:**

CGT è un test genetico progettato per rilevare portatori di mutazioni patogenetiche note che pongono rischi per la futura progenie di avere un disturbo genetico grave. Un risultato "positivo" indica la presenza di una o più mutazioni nell'individuo. In tal caso, il test è altamente raccomandato al partner della persona se la coppia desidera avere un figlio. In alternativa, entrambi i partner possono essere testati contemporaneamente.

Se entrambi sono portatori di una mutazione nello stesso singolo gene, c'è un alto rischio di avere un bambino affetto da una malattia genetica. In questi casi, ci sono opzioni per concepire bambini sani, come PGT-M o donazione di gameti. È anche possibile concepire in modo naturale e ricorrere alla diagnosi prenatale. Un risultato negativo indica che la persona non porta nessuna delle mutazioni studiate. Il test utilizza NGS.

##### **Requisiti del campione:**

2x 4 ml di sangue periferico in provette con EDTA fornite dal laboratorio. Il "Modulo di richiesta Esame" (che può essere richiesto tramite e-mail) deve essere compilato e inserito nel kit CGT.

##### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve avvisare il laboratorio almeno il giorno prima del prelievo, in modo da organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto avverrà in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente.

##### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 20 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

##### **Refertazione:**

Possono essere ottenuti i seguenti risultati:

- **Un risultato positivo del test** indica la rilevazione di una mutazione/i in uno o più geni testati. Se una paziente e il suo partner sono entrambi portatori di mutazioni nello stesso gene associato all'eredità di AR, c'è una probabilità del 25% che qualsiasi bambino che hanno insieme ne sia affetto. Se una donna è portatrice di una mutazione in un gene associato all'eredità legata all'X, c'è una probabilità del 50% che i bambini maschi che il paziente abbia possa essere colpito; tutte le bambine hanno il 50% di probabilità di essere portatrici.
- **Un risultato negativo del test** indica che non sono state rilevate mutazioni nei geni analizzati. Per i geni con un risultato di test negativo, il rischio di avere bambini affetti per i disturbi corrispondenti è diminuito in modo significativo rispetto alla popolazione generale



#### 4.6 TEST ANEUPLOIDIE SPERMATICHE (SAT)

##### **Descrizione:**

Il test per aneuploidie spermatiche (SAT) è un test diagnostico che aiuta a valutare l'infertilità maschile misurando la percentuale di spermatozoi con anomalie cromosomiche in un campione di liquido seminale. Il risultato SAT fornisce una stima del rischio di trasmissione delle anomalie cromosomiche alla prole. Il test analizza in modo specifico i cromosomi più comunemente osservati negli aborti spontanei e progenie affetta da anomalie cromosomiche (cromosomi 13, 18, 21, X e Y). Il test utilizza l'ibridazione fluorescente in situ (FISH).

##### **Requisiti del campione:**

1x 10 ml di liquido seminale sospeso in mezzo di coltura in un tubo conico posto all'interno di un involucro imbottito (non fornito dal laboratorio). Il "Modulo di richiesta esame" (che può essere richiesto via e-mail) deve essere compilato e inserito nel kit SAT.

##### **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve avvisare il laboratorio almeno il giorno prima della raccolta del liquido seminale, in modo da organizzare il ritiro del campione nel migliore dei modi. Il trasporto è a temperatura ambiente.

##### **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 10 giorni lavorativi.

##### **Refertazione:**

Possono essere ottenuti i seguenti risultati:

- **Normale:** il campione mostra una percentuale simile di spermatozoi anomali rispetto a un set di dati di controllo interno.
- **Anormale:** il campione mostra un aumento statisticamente significativo della percentuale di spermatozoi anomali rispetto al set di dati di controllo interno.

#### 4.7 ANALISI DEI PRODOTTI DI CONCEPIMENTO (POC)

##### **Descrizione:**

Il POC è un test genetico che può fornire informazioni per determinare se la perdita di gravidanza è stata causata da un'anomalia cromosomica. Il test POC, eseguito su tessuto recuperato da materiale abortivo, è completo, in quanto analizza, tramite NGS, tutti i 24 cromosomi, evidenziando eventuali anomalie cromosomiche gravi.

##### **Prerequisiti per l'accettazione di un caso POC:**

Non sono necessari prerequisiti specifici per accettare un caso POC. Indicazioni di test specifici e informazioni cliniche pertinenti possono essere riportate nel modulo di richiesta del test.



## Requisiti del campione:

È richiesto il tessuto recuperato dal materiale abortivo. Un campione di tessuto, con dimensioni di almeno 3x3 mm, preferibilmente senza sangue, deve essere posto in un contenitore (di solito fornito dal laboratorio) e coperto con una soluzione salina.

Inoltre, come controllo per testare la contaminazione materna e la poliploidia mediante analisi STR, sono richiesti 4 ml di sangue periferico della madre, raccolti in una provetta EDTA (fornita dal laboratorio).

Sono disponibili istruzioni su come preparare un campione (Istruzioni POC) che possono essere richieste via e-mail. Il "Modulo di richiesta del test" (fornito all'interno del kit fornito e inoltre disponibile tramite e-mail) deve essere compilato e inviato con il campione, all'interno della scatola di spedizione fornita.

## Trasporto in laboratorio:

La clinica deve comunicare a IGENOMIX Italia quando sarà pronto il campione e il laboratorio organizzerà la raccolta del campione. Il trasporto verrà effettuato in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente. Se si invia un campione di sangue, si consiglia di spedire i campioni con "un kit per la preparazione del freddo" se la temperatura esterna supera i 35 °C, evitando di congelare il campione.

I campioni devono essere inviati al laboratorio Igenomix Italia tramite corriere (TNT, UPS ...) e imballati secondo il requisito di imballaggio P650 e chiaramente etichettati campione UN3373.

Per ulteriori dettagli su come inviare i campioni, consultare le istruzioni per il test, che possono essere richieste tramite e-mail, o contattare il servizio di assistenza clienti di IGENOMIX Italia.

## Tempi di consegna del referto:

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 10 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

## Refertazione:

Possono essere ottenuti i seguenti risultati:

- **Normale:** quando non è stata rilevata alcuna aneuploidia o delezione/duplicazione parziale; l'analisi STR aggiuntiva non identifica nessuna contaminazione o poliploidia di cellule materne.
- **Anormale:** quando è stata rilevata una aneuploidia o delezione/duplicazione parziale di dimensioni  $\geq 10$  Mb. Vengono fornite informazioni sull'anomalia rilevata.
- **Contaminazione di cellule materne:** quando è stato ottenuto un risultato femminile normale ma l'analisi STR aggiuntiva rileva solo l'origine materna del campione.
- **Non informativo:** quando la qualità del campione non è ottimale e porta a un risultato NGS inferiore alle soglie di qualità richieste.

## 4.8 ANALISI DEL CARIOTIPO SU SANGUE PERIFERICO

### Descrizione:

L'indagine citogenetica post-natale ha lo scopo di accertare la presenza o l'esclusione di anomalie cromosomiche numeriche e/o strutturali di dimensioni uguali o superiori alle 10Mb.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements





## **Requisiti del campione:**

3 ml di sangue periferico in una provetta di Lio Eparina correttamente etichettata. Il "Modulo di richiesta esame" (che può essere richiesto via e-mail) deve essere compilato e inserito nel kit.

## **Trasporto in laboratorio:**

La clinica deve comunicare a IGENOMIX Italia quando sarà pronto il campione e il laboratorio organizzerà la raccolta del campione. Il trasporto verrà effettuato in kit personalizzati forniti dal laboratorio. Il trasporto è a temperatura ambiente. I campioni devono essere inviati al laboratorio Igenomix Italia tramite corriere (TNT, UPS ...) e imballati secondo il requisito di imballaggio P650 e chiaramente etichettati campione UN3373.

**Nota:** i campioni devono essere conservati a temperatura ambiente e inviati lo stesso giorno di raccolta (o al massimo il giorno successivo). Infatti, il campione deve essere analizzato entro 4 giorni dalla data del prelievo. I campioni che hanno superato questi tempi quando raggiungono il laboratorio Igenomix possono essere rifiutati.

Per ulteriori dettagli su come inviare i campioni, consultare le istruzioni per il test, che possono essere richieste tramite e-mail, o contattare il servizio di assistenza clienti di IGENOMIX Italia.

## **Tempi di consegna del referto:**

Il tempo di consegna del referto (TAT) è di 15 giorni lavorativi dalla ricezione del campione.

## **Refertazione:**

- Numero di metafasi analizzate
- Formula del cariotipo
- Allegato con l'immagine dei cromosomi su piastra metafasica



## 5 QUALITÀ

### 5.1 ACCREDITAMENTO E PARTECIPAZIONE A CIRCUITI DI VALUTAZIONE ESTERNA

Il laboratorio Igenomix Italia è certificato ISO 9001:2015 da parte dell'ente Certiquality e partecipa annualmente ai programmi di valutazione della qualità in ambito genetico (GenQA). Per i test, per cui non è disponibile nessuno schema EQA, il laboratorio esegue una valutazione alternativa interna (AA) due volte all'anno per fornire prove obiettive dell'accettabilità dei risultati degli esami.

Inoltre, Igenomix Italia dal 2019 è accreditato seconda la norma UNI EN ISO 15189:2012, certificato d'eccellenza per i Laboratori Medici, da parte di ACCREDIA, per i test che non sono eseguiti presso laboratori in outsourcing.

### 5.2 STANDARD DI QUALITÀ

Il Centro ha individuato i seguenti indicatori per monitorare la qualità dei servizi offerti:

1. Soddisfazione per il servizio clienti
2. Interazioni con il personale
3. Istruzioni per l'invio di campioni
4. Tempo di refertazione
5. Contenuto dei referti
6. Chiarezza delle informazioni
7. Feedback adeguato in caso di problemi
8. Servizio clienti rispetto ad altri laboratori
9. Navigazione nel sito web
10. Probabilità di raccomandazione a colleghi/pazienti

### 5.3 STRUMENTI DI VERIFICA PER IL RISPETTO DEGLI STANDARD

Gli standard sopra elencati vengono verificati e quindi aggiornati attraverso l'utilizzo di questionari di valutazione del grado di soddisfazione di pazienti/medici/Cliniche. Il Responsabile Gestione Qualità, analizza i questionari compilati, al fine di individuare eventuali scostamenti rispetto agli standard prefissati.

### 5.4 IMPEGNI E PROGRAMMI PER LA QUALITÀ

Il laboratorio garantisce a tutti i pazienti e clienti service, che usufruiscono delle prestazioni erogate:

- Completezza dell'informazione sul trattamento dei dati attraverso la relativa informativa e dichiarazione di consenso;
- Riservatezza e rispetto del Paziente nell'esecuzione delle indagini diagnostiche;
- Personalizzazione dell'assistenza per tutte le prestazioni erogate.



MED N° 0012M  
Membro degli Accordi di Mutuo Riconoscimento EA, IAF e ILAC  
Signatory of EA, IAF and ILAC Mutual Recognition Agreements



Il laboratorio si impegna al miglioramento continuo relativamente all'accuratezza dei servizi erogati ed all'accoglienza mediante le seguenti azioni:

- Stabilire procedure il più possibile vicine alle esigenze dell'utenza relative alla gestione dell'accettazione;
- Aggiornare la formazione del personale non solo relativamente alla buona prassi professionale, ma anche al miglioramento relazionale con Pazienti/Medici/Cliniche;
- Raccogliere ed analizzare i questionari di valutazione al fine di orientare l'organizzazione in funzione dei bisogni di Pazienti/Medici/Cliniche.

## 5.5 INDAGINE SULLA SODDISFAZIONE DEI CLIENTI

Ad intervalli definiti il Responsabile Gestione Qualità raccoglie i questionari di Soddisfazione dei Clienti e li analizza con programmi di statistica.

Con la collaborazione dei Responsabili delle aree risultate inefficienti dopo l'elaborazione dei questionari, vengono programmate le Azioni Correttive finalizzate all'eliminazione delle cause delle Non Conformità riscontrate da Pazienti/Medici/Cliniche.

In sede di Riesame da parte della Direzione, come stabilito dalla Politica della Qualità (parte iniziale della Carta dei Servizi), verranno stabilite le Azioni Correttive e/o Preventive necessarie all'eliminazione dei disservizi.

