

**INFORMATIVA ALL'ANALISI MICROARRAY POSTNATALE****Sezione di Citogenetica**

Modulo MSQ 5.3 Rev.9 del 01-02-2021

**Che cosa è l'analisi con microarray cromosomici (CMA) e quali sono i vantaggi del loro utilizzo**

L'analisi con microarray cromosomico (CMA) è una tecnica molecolare in grado di analizzare contemporaneamente tutti i cromosomi in modo maggiormente approfondito rispetto al cariotipo standard, consentendo di identificare alterazioni cromosomiche molto piccole. La metodica, tuttavia, come meglio sotto esplicitato, presenta dei limiti e delle problematiche interpretative per cui il suo utilizzo va attentamente valutato. Il CMA viene generalmente eseguito in presenza di disturbi dell'apprendimento, dello spettro autistico, epilessia e disturbi generalizzati dello sviluppo psicomotorio. La resa diagnostica col CMA in questa popolazione è del 15-20% (Miller et al, AJHG 2012).

**Caratteristiche tecniche principali della metodica e piattaforme utilizzate**

La tecnica CMA applicata è quella dell'array Comparative Genomic Hybridization (aCGH)+ Single Nucleotide Polymorphisms (SNP). Essa può essere eseguita su due piattaforme differenti.

- Array CGH+SNP con piattaforma oligo genome-wide GenetiSure Dx Postnatal Assays, CE-IVD (Agilent) che analizza 107'000 sonde CGH e 59'000 sonde SNP: la risoluzione spaziale media è di 25 kb nelle regioni critiche, di 150 kb nel backbone e di 8 Mb per la perdita di eterozigotà (LOH).
- Array CGH+SNP con piattaforma oligo genome-wide GenetiSure Cyto 4x180K CGH+SNP (Agilent) che analizza 3644 geni; la distanza tra due sonde consecutive è: 7.3 kb nelle regioni critiche, 57.1 kb nel backbone, 25 kb nelle regioni telomeriche e 10.5 kb nelle regioni PAR. Se si usa un filtro di chiamata a 5 sonde consecutive la risoluzione spaziale media risulta essere di 29.2 kb nelle regioni critiche, di 228.4 kb nel backbone e di 8 Mb per la perdita di eterozigotà (LOH).

**Limiti del CMA**

1. La tecnica non consente di determinare il meccanismo cromosomico alla base dello sbilanciamento identificato (o copy number variation, CNV);
2. Nei casi di CNVs classificate come patogenetiche o a significato incerto, la non-paternità o un precedente trapianto di midollo da donatore eterologo nel probando/a e/o nei genitori potrebbero essere fonte di interpretazioni non corrette sul suo possibile significato clinico.
3. Non è possibile rilevare: sbilanciamenti di dimensione inferiore alla risoluzione effettiva dichiarata; sbilanciamenti coinvolgenti le regioni eterocromatiche, pericentromeriche e non coperte dal disegno della piattaforma; riarrangiamenti cromosomici bilanciati; mutazioni puntiformi; difetti di metilazione; sbilanciamenti genomici nelle regioni pseudoautosomiche e anomalie cromosomiche sbilanciate a mosaico di piccole dimensioni se presenti in una percentuale inferiore al 50%.
4. Le regioni di omozigotà suggestive di UPD o di consanguineità necessitano di conferma con tecniche alternative. Il test con SNPs non consente di definire il genotipo del paziente.

**Possibili risultati forniti dal CMA**

1. CNV a significato chiaramente patogenetico
2. CNV rare, per le quali non esistono ancora sufficienti conoscenze per comprendere se siano benigne o potenzialmente associate a patologie di qualche tipo. Queste varianti vengono definite 'VOUS' (varianti di incerto significato) e hanno una frequenza di circa 1-3% (in relazione alla risoluzione del CMA utilizzato);
3. CNV associate a patologie per cui la malattia può manifestarsi con gravità variabile (anche in forma lieve) e non prevedibile (dette ad espressività variabile e/o penetranza incompleta);
4. CNV che conferiscono predisposizione all'insorgenza di malattie (es. patologie ad insorgenza tardiva, predisposizione all'insorgenza di tumori, ecc) che possono essere state trasmesse da un genitore ancora asintomatico con conseguente diagnosi indiretta del genitore;
5. CNV che comportano uno stato di portatore sano di malattie a trasmissione recessiva
6. L'analisi consente di identificare regioni di omozigotà suggestive di disomia uniparentale (UPD) o di consanguineità. Nel referto verranno riportate le seguenti LOH in accordo con le linee guida dell'ACMG (Del Gaudio et al., 2010; Hoppman et al., 2018): i) LOH telomeriche maggiori di 5 Mb; ii) LOH interstiziali maggiori di 10 Mb localizzate su cromosomi imprintati (7, 11, 14, 15, 20); iii) LOH interstiziali maggiori di 15 Mb su cromosomi non imprintati. Inoltre, verrà segnalato nel referto la presenza di più regioni di omozigotà su diversi cromosomi se tale percentuale risulta essere superiore al 10% dell'intero genoma (Rehder et al., 2013).

**Quando sarà disponibile l'esito del test**

I tempi di refertazione massimi in accordo con il D.g.r. 4 dicembre 2017 -n. X/7466 di regione Lombardia sono previsti entro 40 giorni lavorativi dalla data dell'arrivo del campione in laboratorio.

La presenza di sbilanciamenti può rendere necessario l'uso di tecniche e indagini aggiuntive per caratterizzare il riarrangiamento e può rendere necessario estendere l'analisi ad entrambi i genitori ai fini di una corretta interpretazione del risultato. In aggiunta potrebbero essere richieste conferme con secondo esperimento o metodica alternativa. In questi casi è in genere indispensabile più tempo per le conclusioni diagnostiche. L'esito del test sarà disponibile e verrà consegnato ai genitori/tutori nel corso di una consulenza genetica o dallo specialista. Il DNA genomico estratto per l'analisi verrà conservato per un anno dalla data di accettazione, salva diversa disposizione espressa nel consenso informato.

In caso di ulteriori delucidazioni contattare il Laboratorio.

Luogo e data .....

Firma dell'interessato.....

**Per ANALISI GENETICHE SU MINORE**

Firma/e di entrambi del/i genitore/i o del tutore .....

.....