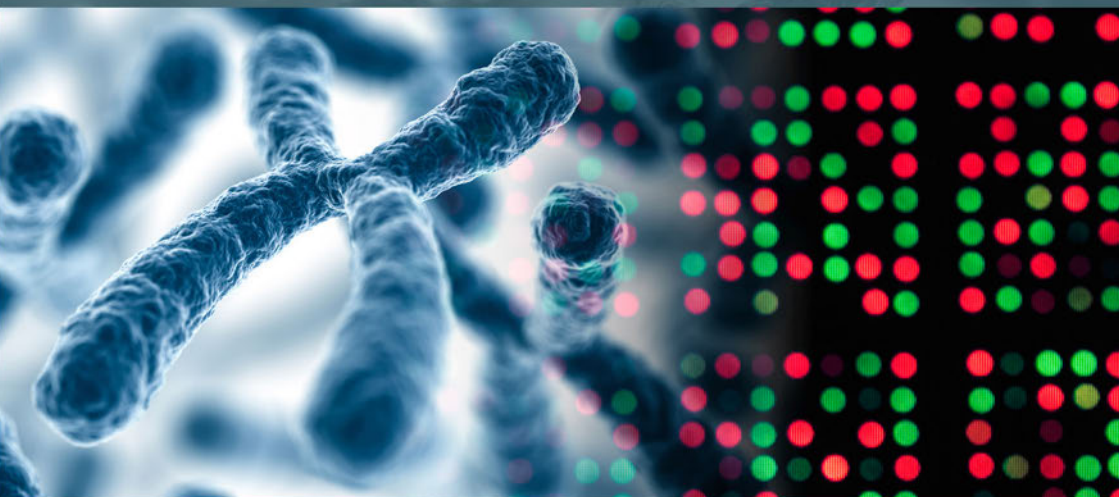


MANUAL TESTES CONFIRMATÓRIOS PARA TRIAGEM NEONATAL



Genética Humana,
Doenças Raras
e Genômica

Manual de Cariótipo & Análise Cromossômica por Microarray (CMA)



Texto elaborado pela Assessoria Científica do DLE.
Proibida a reprodução total ou parcial.

Os logotipos usados neste manual estão entre as marcas comerciais registradas e não registradas do DLE. Todos os direitos reservados.

INTRODUÇÃO

A citogenômica é a área que estuda os cromossomos a partir de sua estrutura, composição, função e comportamento no ciclo celular, por meio de metodologias de diagnóstico tais como o cariótipo e o CMA (Análise Cromossômica por Microarray), que permitem a avaliação em diferentes níveis de resolução.

O cariótipo destaca-se como uma ferramenta que permite o diagnóstico de diferentes condições genéticas constitucionais e de doenças onco-hematológicas. O exame possibilita a detecção de alterações cromossômicas equilibradas (em que não há perda ou ganho de material genético) ou desequilibradas visíveis à microscopia.

O CMA permite a detecção de duplicações ou deleções cromossômicas com maior resolução. Essa metodologia pode ser aplicada ao diagnóstico de síndromes relacionadas a microdeleções e microduplicações cromossômicas, na determinação da origem de material genético, em complementação ao cariótipo, e como teste de varredura genômica diante de sinais clínicos e histórico familiar que não direcionam a uma hipótese diagnóstica específica.

As metodologias, cariótipo e CMA, se complementam como importantes ferramentas no diagnóstico de doenças genéticas e direcionam o aconselhamento genético.

Assessoria Científica
DLE, Genética Humana, Doenças Raras e Genômica

SUMÁRIO

Parte I

Cariótipo	9
Interferentes e Motivos de Reconvocação	13
Cariótipo de Sangue Periférico com Banda G	15
Cariótipo de Sangue Periférico com Banda G com Contagem Ampliada	16
Cariótipo de Sangue Fetal com Banda G (Cordocentese)	17
Cariótipo de Líquido Amniótico com Banda G	18
Cariótipo de Vilo Corial com Banda G	19
Cariótipo de Produto de Concepção com Banda G (Aborto)	20
Cariótipo de Medula Óssea com Banda G	21
Cariótipo de Sangue para Doenças Hematológicas com Banda G	22
Cariótipo de Fibroblastos com Banda G (Pele)	23
Cariótipo para Síndromes de Quebras Cromossômicas	24
Cariótipo de Alta Resolução em Sangue Periférico com Banda G	25
Cariótipo de outros materiais biológicos com Banda G	26

Parte II

CMA	27
Interferentes e Motivos de Reconvocação	30
Análise Cromossômica por <i>Microarray</i>	33
Análise Cromossômica por <i>Microarray</i> com Alta Resolução	34
Análise Cromossômica por <i>Microarray</i> em Líquido Amniótico	35
Análise Cromossômica por <i>Microarray</i> em Materiais Diversos	36

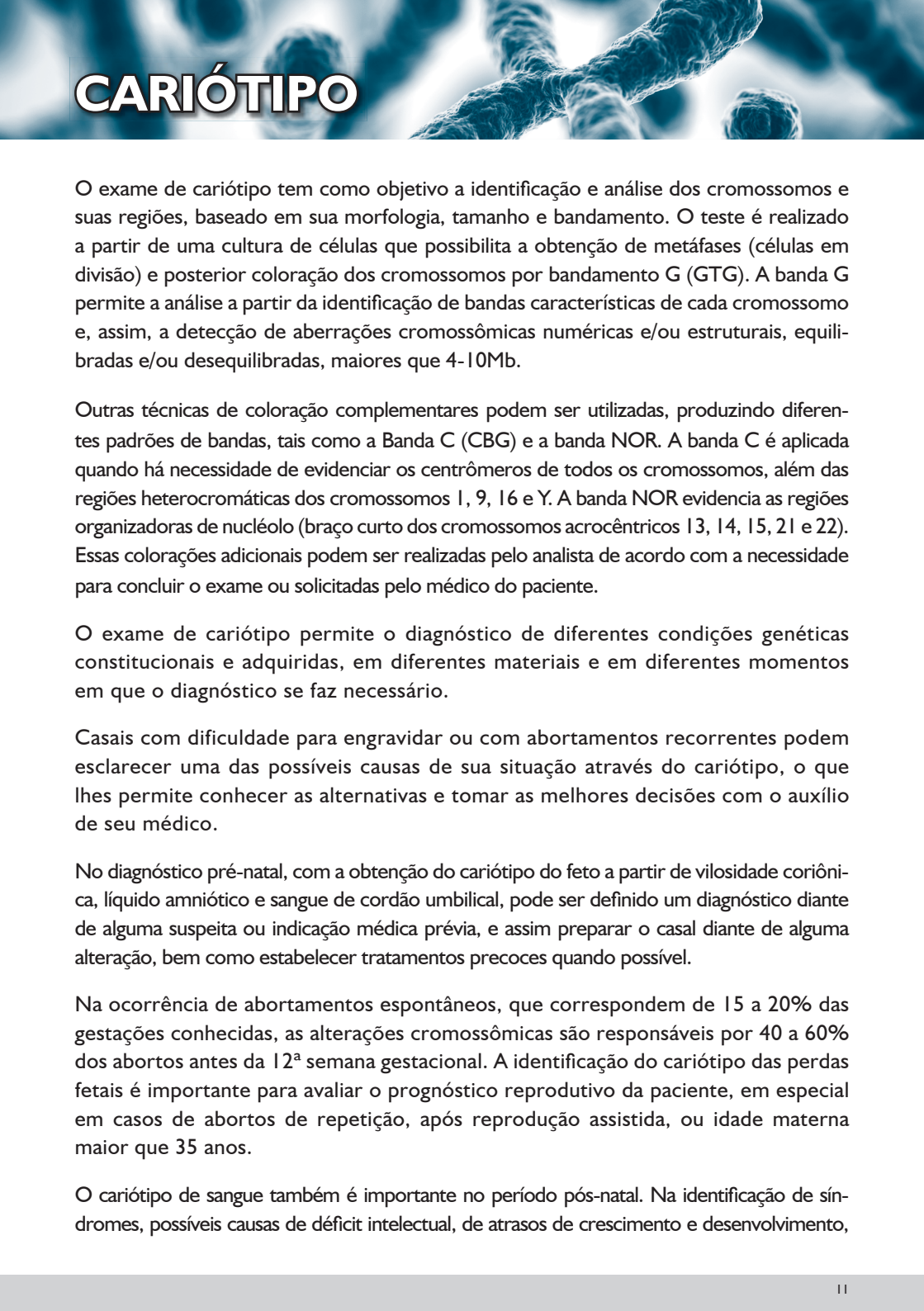
Parte III

Solicitação e Envio	37
Como solicitar o exame	39
Informações ao paciente	40
Instruções para envio	44
Índice de Sinonímia	46

PARTE I

CARIÓTIPO

CARIÓTIPO



O exame de cariótipo tem como objetivo a identificação e análise dos cromossomos e suas regiões, baseado em sua morfologia, tamanho e bandamento. O teste é realizado a partir de uma cultura de células que possibilita a obtenção de metáfases (células em divisão) e posterior coloração dos cromossomos por bandamento G (GTG). A banda G permite a análise a partir da identificação de bandas características de cada cromossomo e, assim, a detecção de aberrações cromossômicas numéricas e/ou estruturais, equilibradas e/ou desequilibradas, maiores que 4-10Mb.

Outras técnicas de coloração complementares podem ser utilizadas, produzindo diferentes padrões de bandas, tais como a Banda C (CBG) e a banda NOR. A banda C é aplicada quando há necessidade de evidenciar os centrômeros de todos os cromossomos, além das regiões heterocromáticas dos cromossomos 1, 9, 16 e Y. A banda NOR evidencia as regiões organizadoras de nucléolo (braço curto dos cromossomos acrocêntricos 13, 14, 15, 21 e 22). Essas colorações adicionais podem ser realizadas pelo analista de acordo com a necessidade para concluir o exame ou solicitadas pelo médico do paciente.

O exame de cariótipo permite o diagnóstico de diferentes condições genéticas constitucionais e adquiridas, em diferentes materiais e em diferentes momentos em que o diagnóstico se faz necessário.

Casais com dificuldade para engravidar ou com abortamentos recorrentes podem esclarecer uma das possíveis causas de sua situação através do cariótipo, o que lhes permite conhecer as alternativas e tomar as melhores decisões com o auxílio de seu médico.

No diagnóstico pré-natal, com a obtenção do cariótipo do feto a partir de vilosidade coriônica, líquido amniótico e sangue de cordão umbilical, pode ser definido um diagnóstico diante de alguma suspeita ou indicação médica prévia, e assim preparar o casal diante de alguma alteração, bem como estabelecer tratamentos precoces quando possível.

Na ocorrência de abortamentos espontâneos, que correspondem de 15 a 20% das gestações conhecidas, as alterações cromossômicas são responsáveis por 40 a 60% dos abortos antes da 12ª semana gestacional. A identificação do cariótipo das perdas fetais é importante para avaliar o prognóstico reprodutivo da paciente, em especial em casos de abortos de repetição, após reprodução assistida, ou idade materna maior que 35 anos.

O cariótipo de sangue também é importante no período pós-natal. Na identificação de síndromes, possíveis causas de déficit intelectual, de atrasos de crescimento e desenvolvimento,

determinação de sexo e malformações congênitas. Em alguns casos se faz necessário o uso de técnicas de cariótipo com alta resolução, que permitem a identificação de alterações estruturais menores. Ou também com técnicas específicas como o cariótipo para síndromes de quebras ou instabilidade cromossômica (DEB teste).

Já no campo de alterações genéticas adquiridas, o cariótipo de medula óssea ou sangue complementam o diagnóstico de doenças hematológicas, visto que células neoplásicas são frequentemente caracterizadas por anomalias cromossômicas. Essas alterações estão associadas a vários tipos de doença hematológica, permitindo o diagnóstico, prognóstico, avaliação da resposta ao tratamento e muitas vezes definindo o tratamento do paciente.

Os casos em que as limitações técnicas do cariótipo ou que a resolução cromossômica do método não seja suficiente para permitir o diagnóstico, podem ser complementados com técnicas como o CMA.

INTERFERENTES E MOTIVOS DE RECONVOCAÇÃO

Alguns fatores podem influenciar negativamente o crescimento celular *in vitro*, e com isso não haverá metáfases suficientes e/ou adequadas para análise.

1- Interferentes de coleta em Sangue Periférico

1.1- Hemólise

É a ruptura de hemácias com o extravasamento dos constituintes intracelulares para o soro ou plasma, pode ocorrer na demora ou dificuldade no procedimento de coleta ou quando o sangue é armazenado em baixa temperatura ou até mesmo congelado.

Como evitar a hemólise?

- Nunca transportar a amostra em recipiente com gelo seco.
- Certifique-se que a amostra não entre em contato direto com gelo reciclável dentro do recipiente de transporte.
- Evitar colher sangue de área com hematoma ou equimose.
- Evitar usar agulha de menor calibre, usar somente este tipo de material quando a veia do paciente for muito fina.
- Em coletas realizadas com seringa e agulha:
 - Verificar se a agulha está bem adaptada à seringa para evitar formação de espuma.
 - Não puxar o êmbolo da seringa com muita força.
 - Após a coleta, homogeneizar suavemente.

1.2- Anticoagulante inadequado

As amostras que necessitam de anticoagulante devem ser coletadas somente em heparina sódica. As amostras não serão aceitas se colhidas em anticoagulante do tipo heparina lítica, EDTA, citrato ou fluoreto.

1.3- Transfusão sanguínea

Não há restrição de coleta desde que a transfusão tenha sido realizada com hemácias lavadas (concentrado de hemácias).

2- Interferentes de coleta e transporte em materiais diversos

2.1- Temperatura inadequada

A exposição da amostra a temperaturas elevadas ou congelamento pode causar degradação e morte celular, inviabilizando o exame. Enviar a amostra refrigerada entre 2° a 8°C.

Todas as amostras devem ser mantidas refrigeradas (2° a 8°C) até o envio e/ou retirada do material.

2.2- Tempo decorrido entre a coleta do material e o recebimento da amostra

- Enviar o material imediatamente após a coleta. O tempo decorrido entre a coleta do material e a chegada ao laboratório (setor de citogenética) não deve ultrapassar 60 horas.
- Atentar para viabilidade celular em amostras acondicionadas em soro fisiológico 0,9% (NaCl 0,9%).
- Evitar o envio de amostras críticas (pele, medula óssea, vilos coriais e produto de concepção) às sextas e sábados devido à possibilidade de não serem entregues no fim de semana e perderem o prazo de estabilidade.

2.3- Medicamentos

- Informar todo o tipo de medicação que o paciente estiver em uso, pois alguns podem inibir o crescimento celular.
- Preferencialmente, e se possível, aguardar 15 dias após o término da medicação quando o paciente estiver em uso de antibióticos e imunossupressores.

2.4- Contaminação

- Realizar cuidadosa assepsia no local de punção com álcool 70% e utilizar material estéril.
- Em coleta com seringa e agulha utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE - Consulte-nos.
- Materiais coletados em “meio de transporte” ou soro fisiológico devem ser manipulados com cuidado para manter a esterilidade do frasco e do meio/soro.

2.5- Meio de transporte

- Para garantir maior estabilidade da amostra disponibilizamos o meio de transporte para as seguintes amostras: medula óssea, vilos coriais, pele e produto de concepção. Essa forma de transporte preserva as células vivas durante o período de transporte e minimiza as chances de re coleta devido à degradação celular.
- O meio deve ser solicitado ao laboratório pelo menos 3 dias úteis antes do dia agendado para a coleta. Os meios devem ser mantidos refrigerados, porém no momento da coleta devem estar a temperatura ambiente. Verificar o prazo de validade antes do uso.
- Para mais informações sobre como adquirir materiais de coleta e transporte fornecidos pelo DLE, entrar em contato com o Canal do Cliente: 4020-8080.

IMPORTANTE

- Todo o material está sujeito a uma solicitação de nova coleta caso haja algum problema referente à cultura celular. O DLE dará prioridade em solicitar essa re coleta dentro de 8 dias úteis após o recebimento do material no laboratório.
- O preenchimento do questionário específico e Termo de Consentimento é fundamental para a realização do exame.
- Em razão da necessidade de profissional especializado e ambiente específico, o DLE não realiza a coleta dos seguintes exames: cordocentese, líquido amniótico, vilos coriais, produto de concepção (material de aborto), biópsia de pele e medula óssea.



CARIÓTIPO DE SANGUE PERIFÉRICO COM BANDA G

Código: CAR

Indicação	Malformação congênita, atraso de desenvolvimento, retardo mental, atraso de crescimento ou baixa estatura, genitália ambígua (determinação de sexo), suspeita de síndromes ou anomalias cromossômicas, aborto de repetição, infertilidade, amenorréia, triagem para doação de oócitos, entre outros.
Células Analisadas	20 a 50 células.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum. Preferencialmente o paciente deve estar sem uso de antibióticos. Em caso de coleta programada recomenda-se esperar 15 dias após o término do medicamento para efetuar a coleta.
Amostra	Volume: Adulto: 5 a 10 mL, Recém nascido: 2 a 5 mL. Sangue total colhido em tubo de heparina sódica (Na-heparin ou tubo de tampa verde) ou em seringa* heparinizada (encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora de seringa). Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE.
Estabilidade	60 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2-8°C).
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura temporária de linfócitos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	18 dias úteis.
Interferentes	Amostra hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada.
Limitações técnicas	O cariótipo normal não exclui mosaicismo de baixa frequência (sensibilidade de 6 a 14% devido a amostragem estatística), microalterações cromossômicas e mutações gênicas.
Observação	Algumas indicações clínicas necessitam da contagem ampliada, nesses casos serão analisadas 50 células a critério do analista ou do médico solicitante.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE SANGUE PERIFÉRICO COM BANDA G COM CONTAGEM AMPLIADA

Código: CAR100

Indicação	Afastar mosaicismo de baixa porcentagem celular.
Células Analisadas	100 células.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum. Preferencialmente o paciente deve estar sem uso de antibióticos. Em caso de coleta programada recomenda-se esperar 15 dias após o término do medicamento para efetuar a coleta.
Amostra	Volume: Adulto: 5 a 10 mL, Recém nascido: 2 a 5 mL. Sangue total colhido em tubo de heparina sódica (Na-heparin ou tubo de tampa verde) ou em seringa* heparinizada (encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora de seringa). Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE.
Estabilidade	60 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2-8°C).
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura temporária de linfócitos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	18 dias úteis.
Interferentes	Amostra hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada.
Limitações técnicas	Este teste tem sensibilidade na detecção de mosaicismo cromossômico próximo de 3%, porém não afasta a possibilidade de mosaicismo confinado a outros tecidos. Essa metodologia também não detecta microalterações cromossômicas e mutações gênicas.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE SANGUE FETAL COM BANDA G (CORDOCENTESE)

Código: CORDO

Indicação	Malformações detectadas ao ultrassom no segundo ou terceiro trimestre de gestação, risco aumentado para anomalia cromossômica na triagem pré-natal bioquímica do segundo trimestre (Risco fetal), confirmação de resultados de mosaicismos cromossômicos no Líquido Amniótico, entre outras.
Células Analisadas	20 células.
Preparo do Paciente	A coleta é procedimento realizado somente em clínicas especializadas em Medicina Fetal ou em ambiente hospitalar, a partir da 20ª semana de gestação. O DLE não realiza a coleta.
Amostra	Volume: 2 a 3 mL de sangue total de cordão umbilical Colher em seringa* heparinizada. Encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora de seringa ou em tubo fornecido pelo DLE.
Estabilidade	48 horas após a coleta se mantido sob refrigeração. (2° a 8°C).
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura temporária de linfócitos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	10 dias corridos - Resultado parcial pode ser fornecido em três dias.
Interferentes	Amostra hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada.
Limitações técnicas	O cariótipo normal não exclui mosaicismos de baixa frequência (sensibilidade de 14% devido a amostragem estatística), microalterações cromossômicas, mutações gênicas e fatores ambientais (exposição a agentes teratogênicos).
Observação	A amostra será triada para a presença de hemoglobina fetal , antes da liberação do laudo com o objetivo de excluir amostras com contaminação com sangue de origem materna.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE LÍQUIDO AMNIÓTICO COM BANDA G

Código: CARLAB

Indicação	Alterações morfológicas ao ultrassom, translucência nucal alterada, antecedentes familiares ou filho anterior com cromossomopatia e/ou malformação congênita, rearranjo cromossômico nos pais, idade materna avançada (>35 anos), abortos de repetição, risco aumentado para anomalia cromossômica na triagem pré-natal bioquímica de primeiro trimestre (Risco fetal) ou Prenatest® (NIPT).
Células Analisadas	25 células.
Preparo do Paciente	A coleta é procedimento realizado somente por especialista em clínicas especializadas em Medicina Fetal ou em ambiente hospitalar a partir da 14ª semana de gestação. O DLE não realiza a coleta.
Amostra	No período gestacional entre a 14ª e a 16ª semana completa, coletar 1 mL de líquido amniótico para cada semana gestacional. A partir da 17ª semana coletar 20 mL de líquido amniótico. Coletar em seringa atóxica (marca BD*) e encaminhar a mesma sem agulha e fechada com uma tampa especial para seringas. Não usar anticoagulante.
Estabilidade	48 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C)
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura prolongada de fibroblastos e bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de de 300 - 550 bandas.
Prazo	20 dias corridos.
Interferentes	Alta contaminação do líquido amniótico com células sanguíneas, amostra transportada em recipiente com tampa de borracha (borracha é tóxica para amniócitos), temperatura de transporte inadequada, amostras com células em degeneração.
Limitações técnicas	O cariótipo normal não exclui mosaicismo de baixa frequência (sensibilidade de 12% devido a amostragem estatística), microalterações cromossômicas, mutações gênicas e fatores ambientais (exposição a agentes teratogênicos).
Observação	Informar DUM ou Idade Gestacional.

* A marca BD não possui substâncias citotóxicas



CARIÓTIPO DE VILO CORIAL COM BANDA G

Código: CARVILO

Indicação	Alterações morfológicas ao ultrassom, translucência nucal alterada, antecedentes familiares ou filho anterior com cromossomopatia e/ou malformação congênita, rearranjo cromossômico nos pais, idade materna avançada (> 35 anos), abortos de repetição, risco aumentado para anomalia cromossômica na triagem pré-natal bioquímica de primeiro trimestre (Risco fetal) ou Prenatest® (NIPT).
Células Analisadas	25 células.
Preparo do Paciente	A coleta é procedimento realizado somente por especialista em clínicas especializadas em Medicina Fetal ou em ambiente hospitalar entre a 11ª e 14ª semana de gestação. O DLE não realiza a coleta.
Amostra	Enviar uma pequena quantidade de vilosidade coriônica (10 a 50 mg) em frasco estéril contendo Soro fisiológico (NaCl 0,9%) estéril ou solicitar previamente ao laboratório meio de transporte. Também pode ser encaminhado em seringa* atóxica contendo soro fisiológico estéril ou meio de transporte, sem agulha e com tampa protetora.
Estabilidade	Armazenado em NaCl 0,9% a estabilidade é de 24 horas e em meio de transporte 48 horas, mantido sob refrigeração (2° a 8°C).
Transporte da Amostra	No próprio frasco fornecido pelo laboratório, seringa ou em frasco estéril com meio ou NaCl 0,9% (amostral totalmente imersa). Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura semi-direta e/ou prolongada de trofoblastos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	10 dias úteis Observação: Fatores como idade gestacional, quantidade de amostra e aspecto das células em cultura determinam o tipo de cultivo realizado. Dessa forma, o prazo poderá ser estendido em até 20 dias se necessário (previamente confirmado pelo setor de Citogenômica do laboratório DLE).
Interferentes	Temperatura de transporte inadequada, quantidade inadequada de amostra, embalagens inadequadas que possam resultar em contaminação durante o transporte, prazo de estabilidade excedido.
Limitações técnicas	O cariótipo normal não exclui mosaicismos de baixa frequência (sensibilidade de 12% devido a amostragem estatística), microalterações cromossômicas, mutações gênicas e fatores ambientais (exposição a agentes teratogênicos). Falso-mosaicismos cromossômicos podem ocorrer devido a artefato da cultura e presença de anormalidades cromossômicas em células da placenta que não ocorrem nas células do feto (mosaicismos confinados à placenta).
Observação	Informar DUM ou Idade Gestacional.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE PRODUTO DE CONCEPÇÃO COM BANDA G (ABORTO)

Código: CMABG

Indicação	Abortos de repetição, antecedentes familiares de cromossomopatias, pós tecnologias de reprodução assistida, gestação anembrionada, mola hidatiforme.
Células Analisadas	10 a 20 células.
Preparo do Paciente	A coleta do material é realizada em ambientes ambulatoriais ou Hospitalares. Verificar orientações específicas para abortamentos espontâneos ocorridos fora desses ambientes com o Canal do Cliente. O DLE não realiza a coleta.
Amostra	• Até a 11ª semana de gestação, colher vilosidade coriônica ou enviar o saco gestacional completo. • Da 12ª a 16ª semana de gestação, colher vilosidade coriônica, pequeno fragmento de pele fetal ou cordão umbilical. • A partir da 17ª semana de gestação, colher pequeno fragmento de cordão umbilical e/ou pele fetal (cerca de 1 cm³, preferencialmente da região posterior do tronco (costas) ou região mamária). Enviar a amostra conservada em frasco estéril contendo soro fisiológico estéril (NaCl 0,9%) ou solicitar previamente ao laboratório meio de transporte. Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE.
Estabilidade	Armazenado em Soro fisiológico 0,9% a estabilidade é de 24 horas e em meio de transporte 60 horas, mantido sob refrigeração (2° a 8°C).
Transporte da Amostra	No próprio frasco fornecido pelo laboratório ou em frasco estéril com meio ou NaCl 0,9% (amostral totalmente imersa). Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura de trofoblastos ou fibroblastos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	30 dias corridos
Interferentes	Temperatura de transporte, amostra inadequada (presença somente de decídua e coágulos), embalagens inadequadas, prazo de estabilidade excedido, aborto retido por muitos dias. Importante: Amostras que tiveram contato ou forem acondicionadas em álcool ou formol não serão aceitas.
Limitações técnicas	O exame não detecta microalterações cromossômicas, mutações gênicas e alterações associadas a fatores ambientais (exposição a agentes teratogênicos). Falso-mosaicismo cromossômico pode ocorrer devido a artefato da cultura e presença de anormalidades cromossômicas em células da placenta que não ocorrem nas células do feto (mosaicismo confinado à placenta).
Observação	Informar DUM ou Idade Gestacional.



CARIÓTIPO DE MEDULA ÓSSEA COM BANDA G

Código: CARIMO

Indicação	Doenças hematológicas tais como Leucemia, linfoma, anemia, plaquetopenia, leucocitose, mieloma múltiplo, policitemia vera, trombocitemia essencial, LMC, LMA, LPA.
Células Analisadas	20 células.
Preparo do Paciente	A coleta é procedimento realizado somente por especialista. Se o paciente estiver em uso de antibiótico aguardar, preferencialmente, 15 dias após o término do medicamento para realizar a coleta. O DLE não realiza a coleta.
Amostra	Coletar de 3 a 5 mL de aspirado de medula óssea com tubo de heparina sódica (Na-heparin ou tubo de tampa verde) ou em seringa* heparinizada (encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora). Preferencialmente, solicitar meio de transporte previamente ao laboratório DLE.
Estabilidade	24 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C). Serão aceitas amostras até 60 horas, se enviadas em meio de cultura oferecido pelo DLE.
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura de células da medula óssea com e/ou sem mitógenos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	20 dias corridos.
Interferentes	Amostra hemodiluída, hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada, tempo de estabilidade excedido.
Limitações técnicas	O cariótipo normal não exclui mosaicismos de baixa frequência (amostragem estatística), microalterações cromossômicas e mutações gênicas.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE SANGUE PARA DOENÇAS HEMATOLÓGICAS COM BANDA G

Código: CARHEMO

Indicação	Doenças hematológicas tais como Leucemia, linfoma, anemia, plaquetopenia, leucocitose, mieloma múltiplo, policitemia vera, trombocitemia essencial, LMC, LMA, LPA. É indicado somente quando não for possível coletar amostra da medula óssea e se houver alta porcentagem de blastos circulantes (>20%).
Células Analisadas	20 células.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum. Se o paciente estiver em uso de antibiótico aguardar, preferencialmente, 15 dias após o término do medicamento para realizar a coleta.
Amostra	Volume: Adulto: 5 a 10mL, Crianças: 5mL. Sangue total colhido em tubo de heparina sódica (Na-heparin ou tubo de tampa verde) ou em seringa* heparinizada (encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora de seringa). Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE.
Estabilidade	60 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C).
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir da cultura de células do sangue com e/ou sem mitógenos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	20 dias corridos
Interferentes	Ausência de blastos na circulação periférica, amostra hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada, tempo de estabilidade excedido.
Observação	Encaminhar cópia do hemograma colhido dentro das 24h que antecedem a coleta do cariótipo.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE FIBROBLASTOS COM BANDA G (PELE)

Código:CARFIB

Indicação	Mosaicismo cromossômico de baixa frequência, doenças genéticas confinada a tecido, mosaico pigmentar, óbito neonatal. Também pode ser realizado quando o cariótipo no sangue é normal e há indicação clínica para a alteração cromossômica (sugestivo de mosaicismo tecidual).
Células Analisadas	20 células.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum. Se o paciente estiver em uso de antibiótico aguardar, preferencialmente, 15 dias após o término do medicamento para realizar a coleta.
Amostra	Fragmento de pele: 30 a 50mg ou 2 a 4mm ³ (região sem pelos). Enviar a amostra conservada em frasco estéril contendo soro fisiológico estéril (NaCl 0,9%) ou solicitar previamente ao laboratório meio de transporte.
Estabilidade	48 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C) em meio de transporte. Em soro fisiológico a estabilidade é de 24h.
Transporte da Amostra	No próprio frasco fornecido pelo laboratório ou em frasco estéril com meio ou NaCl 0,9% (amostral totalmente imersa). Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos obtidos a partir de cultura de fibroblastos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	30 dias corridos.
Interferentes	Fragmentos do tecido necrosado, temperatura no transporte inadequada, contaminação do material, embalagens inadequadas, assepsia da pele com iodopovidona (Povidine). Recomenda-se utilizar somente álcool 70% na assepsia. Importante: Amostras que tiverem contato ou forem acondicionadas em álcool ou formol, são impróprias e não serão aceitas para análise.
Observação	Algumas indicações clínicas necessitam da contagem ampliada, nesses casos, se possível, serão analisadas 50 células. Eventualmente será necessário o envio de amostras de diferentes partes da pele quando houver regiões com diferentes pigmentações.



CARIÓTIPO PARA SÍNDROMES DE QUEBRAS CROMOSSÔMICAS

Código:CARQ

Indicação	Suspeita de Anemia de Fanconi (AF)
Células Analisadas	50 metáfases de cada uma das culturas com agentes clastogênicos e 10 metáfases com banda G.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum. O paciente não pode estar em uso de antibióticos. Em caso de coleta programada recomenda-se esperar 15 dias após o término do medicamento para efetuar a coleta.
Amostra	Volume: Adulto: 10mL, Recém nascido: 5mL. Sangue total colhido em tubo de heparina sódica (Na-heparin ou tubo de tampa verde) ou em seringa* heparinizada (encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora de seringa). Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE.
Estabilidade	60 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C).
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Estudo de quebras em cromossomos obtidos a partir de cultura temporária de linfócitos, induzidas por agentes clastogênicos, com coloração convencional e bandamento G.
Prazo	25 dias úteis.
Interferentes	Amostra hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte.
Limitações Técnicas	Apesar de se tratar de uma doença gênica e não cromossômica, o cariótipo específico usualmente apresenta um valor preditivo de 99.9% no diagnóstico da AF. No entanto, indivíduos heterozigotos ou que apresentem mosaicismo cromossômico podem apresentar falso-negativo. Dessa forma, diante de um resultado negativo em que persista a suspeita clínica recomenda-se teste molecular.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE ALTA RESOLUÇÃO EM SANGUE PERIFÉRICO COM BANDA G

Código: CALTARES

Indicação	Malformação congênita não sindrômica, atraso de desenvolvimento, déficit intelectual, retardo mental, definição do rearranjo cromossômico (estrutural) na presença de alterações detectadas por CMA visando o aconselhamento genético.
Células Analisadas	20 células.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum. O paciente não pode estar em uso de antibióticos. Em caso de coleta programada recomenda-se esperar 15 dias após o término do medicamento para efetuar a coleta.
Amostra	Volume: Adulto: 5 a 10mL, Recém nascido: 3 a 5mL Sangue total colhido em tubo com heparina sódica (Na-heparin ou tubo de tampa verde) ou em seringa* heparinizada (encaminhar a seringa sem agulha, com tampa protetora de seringa). Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE.
Estabilidade	60 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C).
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Cromossomos em alta resolução obtidos a partir de cultura temporária de linfócitos com bandamento G - Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com resolução de 550 - 800 bandas.
Prazo	30 dias corridos.
Interferentes	Amostra hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte.
Limitações Técnicas	O cariótipo normal não exclui mosaicismos de baixa frequência (sensibilidade de 6 a 14% devido a amostragem estatística), microalterações cromossômicas e mutações gênicas.

* Utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas validadas pelo Laboratório DLE. – Consulte-nos.



CARIÓTIPO DE OUTROS MATERIAIS BIOLÓGICOS COM BANDA G

Código: CARBIO

Indicação	Amostras que não se enquadram nas categorias dos materiais biológicos citados previamente neste manual podem ser encaminhados sob consulta para cariótipo, tais como: líquido pleural, urina fetal, células mesenquimais e outros células em cultura, tais como projetos de pesquisa.
Células Analisadas	25 células.
Preparo do Paciente	Consultar.
Amostra	A consultar conforme material a ser enviado.
Estabilidade	A consultar conforme material a ser enviado.
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Estudo numérico e estrutural dos cromossomos com bandamento G com resolução de 300 - 550 bandas.
Prazo	20 dias corridos.
Interferentes	Específico para amostra.
Limitações Técnicas	Mosaicismo de baixa frequência (sensibilidade de 12% devido a amostragem estatística), microalterações cromossômicas, mutações gênicas e fatores ambientais (exposição a agentes teratogênicos).

PARTE II

CMA

Nas últimas décadas a metodologia de CMA tem sido amplamente utilizada na detecção de deleções e duplicações (Variações no Número de Cópias - CNVs) no genoma humano que podem levar a distúrbios genéticos. Esta poderosa ferramenta de diagnóstico baseia-se na comparação entre o material genético do indivíduo em teste com controles, através de sondas específicas em *microarray*.

A metodologia utilizada possibilita a detecção de CNVs maiores que 75Kb. Nas inúmeras regiões já associadas a doenças genéticas há uma maior densidade de sondas, permitindo a identificação de CNVs maiores do que 50kb.

Esta metodologia possui sondas de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) que permite a detecção de dissomia uniparental (UDP) e perda de heterozigose (LOH). A associação das análises de CNVs, UDP e LOH ampliam o número de informações obtidas no exame, resultando em uma melhor correlação genótipo-fenótipo.

Entre as principais indicações para o CMA, destacamos:

- Indivíduos com possíveis transtornos genéticos e com resultado de cariótipo normal. A alta resolução dessa metodologia permite a análise de todo genoma quanto à presença de microalterações.
- Na ocorrência de cariótipo inconclusivo, presença de material adicional ou de um cromossomo marcador, CMA é indicado para elucidar a origem da alteração, permitindo a conclusão do diagnóstico.
- Diante de uma clínica que não se enquadre em síndromes descritas ou não estejam associadas a regiões específicas do genoma, o CMA é o método de escolha inicial para direcionar o diagnóstico.
- Para o diagnóstico de déficit intelectual e atraso no desenvolvimento, que geralmente são decorrentes de pequenas CNVs, o CMA tem sido indicado devido à alta sensibilidade.
- Suspeita de síndromes de microdeleção cromossômica, tais como síndrome de Wolf-Hirschhorn, Sotos, Williams-Beuren, Langer-Giedion, WAGR, Rubinstein-Taybi, Miller-Dieker, Smith-Magenis, Alagille, DiGeorge e Phelan-McDermid, entre outras.
- Em relação ao diagnóstico pré-natal, o CMA do feto pode ser solicitado em casos de malformação fetal detectada ao ultrassom, rearranjo cromossômico nos pais, cariótipo fetal normal ou conforme orientação do médico assistente.
- Em casos de perdas gestacionais, cuja provável causa genética não foi possível determinar no cariótipo do produto de concepção (material de abortamento).

INTERFERENTES E MOTIVOS DE RECONVOCAÇÃO

I- Interferentes de coleta de sangue em tubo à vácuo ou seringa

I.1- Hemólise

É a ruptura de hemácias com o extravasamento dos constituintes intracelulares para o soro ou plasma, pode ocorrer na demora ou dificuldade no procedimento de coleta ou quando o sangue é armazenado em baixa temperatura ou até mesmo congelado.

Como evitar a hemólise?

- Nunca transportar a amostra em recipiente com gelo seco.
- Certifique-se que a amostra não entre em contato direto com gelo reciclável dentro do recipiente de transporte.
- Evitar colher sangue de área com hematoma ou equimose.
- Evitar usar agulha de menor calibre, usar somente este tipo de material quando a veia do paciente for muito fina.
- Em coletas realizadas com seringa e agulha:
 - Verificar se a agulha está bem adaptada à seringa para evitar formação de espuma.
 - Não puxar o êmbolo da seringa com muita força.
 - Após a coleta, homogeneizar suavemente.

I.2- Anticoagulante inadequado

As amostras devem ser coletadas somente em EDTA (tubo de tampa roxa). As amostras não serão aceitas se colhidas em anticoagulante do tipo Heparina, Citrato ou Fluoreto.

I.3- Transfusão sanguínea

Não há restrição de coleta desde que a transfusão tenha sido realizada com hemácias lavadas (concentrado de hemácias).

I.4- Tempo decorrido entre a coleta do material e o recebimento da amostra

Enviar a amostra refrigerada entre 2° a 8° C° em até uma semana ou em temperatura ambiente em até 72 horas.

I.5- Temperatura inadequada

A exposição da amostra a temperaturas elevadas ou congelamento pode causar degradação do DNA.

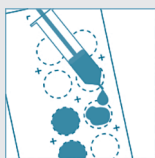
I.6- Contaminação

Realizar cuidadosa assepsia no local de punção com álcool 70% e utilizar material estéril.

2- Interferentes de coleta de sangue em Papel Filtro (**DLE COLLECT**[®]).

- Para a coleta de sangue em papel filtro, é recomendável realizar a coleta sem anticoagulantes. Se houver necessidade de coleta com anticoagulante, observar descrição no item 1.2 Anticoagulantes inadequados;
- Não toque o papel filtro em hipótese alguma;
- Atentar para o preenchimento correto dos círculos impressos no papel;
- Não colocar as amostras na geladeira antes que estejam completamente secas;
- Não utilize nenhum método artificial para acelerar o processo de secagem (luz direta, sol, vento, calor etc.).

2.1- Instruções para coleta em papel filtro (**DLE COLLECT**[®]).



Em punção venosa evitar o uso de anti-coagulante. Retire a agulha e goteje o sangue sobre os círculos.



Na punção digital faça antissepsia do local e seque-o. Puncione e goteje o sangue sobre os círculos do papel filtro.



Na punção do calcanhar faça antissepsia do local e seque-o. Puncione no local indicado (área tracejada). Goteje o sangue sobre os círculos do papel filtro.

Mais informações em dle.com.br/collect.

3- Interferentes de coleta em materiais diversos

3.1- Temperatura inadequada

A exposição da amostra a temperaturas elevadas ou congelamento pode causar degradação e morte celular, inviabilizando o exame. Amostras de medicina fetal e fibroblastos devem ser enviadas refrigeradas entre 2° a 8°C. Todas as amostras devem ser mantidas refrigeradas (2° a 8°C) até o envio e/ou retirada do material.

3.2- Tempo decorrido entre a coleta do material e o recebimento da amostra

- Enviar o material imediatamente após a coleta. O tempo decorrido entre a coleta do material e a chegada ao laboratório não deve ultrapassar 60 horas.
- Atentar para viabilidade celular em amostras acondicionadas em soro fisiológico 0,9% (NaCl 0,9%).
- Evitar o envio de amostras críticas (medicina fetal e fibroblastos) às sextas e sábados devido à possibilidade de não serem entregues no fim de semana e perderem o prazo de estabilidade.

3.3- Contaminação

- Utilizar material estéril nas coletas
- Em coleta com seringa e agulha utilize somente as marcas que não possuem substâncias citotóxicas.
- Materiais coletados em “meio de transporte” ou soro fisiológico devem ser manipulados com cuidado para manter a esterilidade do frasco e do meio/soro.

3.4- Meio de transporte

- Para garantir maior estabilidade da amostra disponibilizamos o meio de transporte para as seguintes amostras: vilo corial, pele e produto de concepção. Essa forma de transporte preserva as células vivas durante o período de transporte e minimiza as chances de coleta devido à degradação celular.
- O meio deve ser solicitado ao laboratório pelo menos 3 dias úteis antes do dia agendado para a coleta. Os meios devem ser mantidos refrigerados, porém no momento da coleta devem estar a temperatura ambiente. Verificar o prazo de validade antes do uso.
- Para mais informações sobre como adquirir materiais de coleta e transporte fornecidos pelo DLE, entrar em contato com o Canal do Cliente: 4020-8080.

IMPORTANTE

- Todo o material está sujeito a uma solicitação de nova coleta caso haja algum problema referente a concentração ou qualidade do DNA obtido.
- O preenchimento do questionário específico e Termo de Consentimento é fundamental para a realização do exame.
- Para maiores informações sobre como adquirir materiais de coleta e transporte fornecidos pelo DLE, entrar em contato com o Canal do Cliente: 4020-8080.



ANÁLISE CROMOSSÔMICA POR MICROARRAY

Código: CMAHR

Indicação	Cariótipo normal ou inconclusivo, malformações congênitas, deficiência intelectual, atraso neuropsicomotor, transtorno de espectro autista, genitália ambígua, suspeita de síndromes genéticas, convulsões, análise de aborto, entre outros.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum.
Amostra	- Sangue periférico em EDTA - Adulto: 5 a 10mL, RN: 2 a 5mL. - Cordocentese: 1 a 3mL. - Sangue total seco em papel filtro (DLE Collect™) - preencher corretamente todos os círculos do papel, conforme orientação impressa. Preencher questionário de Teste genético e Termo de Consentimento.
Estabilidade	- Sangue periférico e cordocentese: 72h mantido em temperatura ambiente, sete dias mantido sob refrigeração (2° a 8°C). - Sangue em papel filtro: 10 dias em temperatura ambiente, após completa secagem.
Transporte da Amostra	- Sangue periférico e cordocentese: enviar a amostra em temperatura ambiente ou sob refrigeração com gelo reciclável, tomando o cuidado de não deixar a amostra em contato direto com o gelo. - Sangue em papel filtro: Enviar em temperatura ambiente. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Análise de deleções e duplicações através da comparação entre o material genético do indivíduo em teste com controles, através de sondas específicas em <i>microarray</i> .
Prazo	Em até 12 dias úteis.
Interferentes	- Sangue periférico: Amostra insuficiente, hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada. - Sangue em papel filtro: Secagem incorreta da matriz, material insuficiente. - Contaminação com material de origem materna (cordocentese)
Limitações Técnicas	A análise por CMA não detecta mosaicismos em baixa frequência e rearranjos cromossômicos equilibrados. A técnica não permite esclarecer a origem de rearranjos cromossômicos. Deleções e duplicações menores que a resolução da plataforma utilizada não são detectadas (consultar assessoria científica DLE 4020-8080).



ANÁLISE CROMOSSÔMICA POR MICROARRAY COM ALTA RESOLUÇÃO

Código: ACGH

Indicação	Suspeita clínica de microalteração cromossômica, menor que o limite de detecção do CMA-HR.
Preparo do Paciente	Não é necessário jejum.
Amostra	- Sangue periférico em EDTA - Adulto: 5 a 10mL, RN: 2 a 5mL. - Cordocentese: 1 a 3mL. - Sangue total seco em papel filtro (DLE Collect™) - preencher corretamente todos os círculos do papel, conforme orientação impressa. Preencher questionário de Teste genético e Termo de Consentimento.
Estabilidade	- Sangue periférico e cordocentese: 72h mantido em temperatura ambiente, sete dias mantido sob refrigeração (2° a 8°C). - Sangue em papel filtro: 10 dias em temperatura ambiente, após completa secagem.
Transporte da Amostra	- Sangue periférico e cordocentese: Enviar a amostra em temperatura ambiente ou sob refrigeração com gelo reciclável, tomando o cuidado de não deixar a amostra em contato direto com o gelo. - Sangue em papel filtro: Enviar em temperatura ambiente. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Análise de deleções e duplicações através da comparação entre o material genético do indivíduo em teste com controles, através de sondas específicas em <i>microarray</i> .
Prazo	25 dias úteis.
Interferentes	- Sangue periférico: Amostra insuficiente, hemolisada, coagulada, anticoagulante incorreto, temperatura de transporte inadequada. - Sangue em papel filtro: Secagem incorreta da matriz, material insuficiente. - Contaminação com material de origem materna (cordocentese).
Limitações Técnicas	A análise por CMA não detecta mosaicismos em baixa frequência e rearranjos cromossômicos equilibrados. A técnica não permite esclarecer a origem de rearranjos cromossômicos. Deleções e duplicações menores que a resolução da plataforma utilizada não são detectadas.



ANÁLISE CROMOSSÔMICA POR MICROARRAY EM LÍQUIDO AMNIÓTICO

Código:CMA-LAM

Indicação	Malformações detectadas ao ultrassom, rearranjo cromossômico nos pais, suspeita de microalterações cromossômicas, na presença de suspeita clínica de alteração genética com cariótipo fetal normal, ou conforme orientação do médico assistente.
Preparo do Paciente	A coleta é procedimento realizado somente por especialista em clínicas especializadas em Medicina Fetal ou em ambiente hospitalar a partir da 14ª semana de gestação. O DLE não realiza a coleta. Preencher questionário de <i>Microarray</i> e termo de consentimento.
Amostra	No período gestacional entre a 14ª e a 16ª semana completa, coletar 1 mL de líquido amniótico para cada semana gestacional. A partir da 17ª semana coletar 20 mL de líquido amniótico. Coletar em seringa atóxica (marca BD*) e encaminhar a mesma sem agulha e fechada com uma tampa especial para seringas. Não usar anticoagulante.
Estabilidade	48 horas após a coleta se mantido sob refrigeração (2° a 8°C)
Transporte da Amostra	Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular. <i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Análise de deleções e duplicações através da comparação entre o material genético do indivíduo em teste com controles, através de sondas específicas em <i>microarray</i> .
Prazo	20 dias úteis.
Interferentes	Alta contaminação do líquido amniótico com células sanguíneas, amostra transportada em recipiente com tampa de borracha (borracha é tóxica para amniócitos), temperatura de transporte inadequada, amostras com células em degeneração.
Limitações Técnicas	A análise por CMA não detecta mosaicismos em baixa frequência e rearranjos cromossômicos equilibrados. A técnica não permite esclarecer a origem de rearranjos cromossômicos. Deleções e duplicações menores que a resolução da plataforma utilizada não são detectadas (consultar assessoria científica DLE 4020-8080).

* A marca BD não possui substâncias citotóxicas



ANÁLISE CROMOSSÔMICA POR MICROARRAY EM MATERIAIS DIVERSOS

Código: CMADIV

Indicação	Diagnóstico em casos em que o cariótipo não obteve resultado ou necessita ser complementado, amostras fora do período de estabilidade para cariótipo, ou conforme orientação do médico assistente.
Preparo do Paciente	A coleta do material é realizada em ambientes ambulatoriais ou Hospitalares. Verificar instruções específicas para amostras diversas com o canal do cliente. O DLE não realiza a coleta.
Amostra	- Vilo corial. - Produto de concepção (aborto). - Fibroblastos (pele). Enviar a amostra conservada em frasco estéril contendo soro fisiológico estéril (NaCl 0,9%) ou solicitar previamente ao laboratório meio de transporte. Enviar preferencialmente em materiais fornecidos pelo DLE. As amostras devem ser coletadas seguindo as mesmas orientações descritas para cariótipo dos respectivos materiais (vide Parte I deste Manual)
Estabilidade	Armazenado em Soro fisiológico 0,9% a estabilidade é de 24 horas e em meio de transporte 60 horas, mantido sob refrigeração (2°- 8°C).
Transporte da Amostra	No próprio frasco fornecido pelo laboratório ou em frasco estéril com meio ou NaCl 0,9% (amostra totalmente imersa). Enviar a amostra refrigerada com gelo reciclável, sem contato direto com o gelo para evitar congelamento e consequente inviabilidade celular.
	<i>Vide Instrução para envio</i>
Método	Análise de deleções e duplicações através da comparação entre o material genético do indivíduo em teste com controles, através de sondas específicas em <i>microarray</i> .
Prazo	30 dias úteis
Interferentes	Temperatura de transporte, amostra inadequada, embalagens inadequadas, material insuficiente. Importante: Amostras que tiveram contato ou forem acondicionadas em álcool ou formol não serão aceitas.
	Fragmentos do tecido necrosado, assepsia da pele com iodopovidona (Povidine). Recomenda-se utilizar álcool 70% na assepsia.
Limitações Técnicas	A análise por CMA não detecta mosaicismos em baixa frequência e rearranjos cromossômicos equilibrados. A técnica não permite esclarecer a origem de rearranjos cromossômicos.
	Deleções e duplicações menores que a resolução da plataforma utilizada não são detectadas (consultar assessoria científica DLE 4020-8080).
Importante	Amostras que não se enquadram nas categorias acima descritas poderão ser encaminhadas sob consulta (Canal do cliente ou assessoria científica DLE 4020-8080). Verificar orientações de coleta, transporte e armazenamento específicos.

PARTE III

SOLICITAÇÃO E ENVIO

COMO SOLICITAR O EXAME

O Exame deverá ser solicitado em **requisição própria do DLE** ou **receituário médico**.

Em qualquer das opções o pedido deve vir acompanhado do **Termo de Consentimento Informado** assinado pelo paciente ou responsável legal.

A requisição do DLE e o Termo de Consentimento Informado podem ser impressos a partir de nosso site (dle.com.br/citogenomica).

Caso seja de sua preferência o modelo de Termo de Consentimento abaixo poderá ser reproduzido no próprio receituário médico ou papel timbrado do serviço responsável pela coleta da amostra.

Modelo de Termo de Consentimento Informado

Paciente: _____

Data de Nascimento: ____ / ____ / ____ Sexo: _____

Eu, _____, concordo que seja realizado na amostra coletada o seguinte exame:

- () Cariótipo, ou seja, análise do conjunto de cromossomos por bandejamento G.
() CMA, ou seja, análise cromossômica por *microarray*.

CONSENTIMENTO

Declaro que tomei conhecimento dos riscos, benefícios e limitações deste teste e que foram explicados para mim de forma ampla, clara e satisfatória por meu médico assistente compreendendo a necessidade de obter auxílio médico na interpretação do resultado.

Tenho ciência de que a análise da amostra somente terá início mediante o envio deste termo de CONSENTIMENTO INFORMADO, completamente preenchido, e que formaliza a autorização para o teste.

A minha assinatura neste documento constitui permissão para a realização do teste em amostra colhida de mim ou de pessoa sob a minha guarda legal, indicada acima.

Atesto a veracidade dos dados por mim fornecidos neste documento.

Local: _____ Data: ____ / ____ / ____

Assinatura do Paciente ou Responsável Legal

RG ou CPF

INFORMAÇÕES AO PACIENTE

Informações importantes que devem ser passadas ao paciente ou responsável legal.

I. CARIÓTIPO

Sobre o resultado

- Devido a limitações técnicas do exame, o cariótipo não detecta:
 - Mosaicismo com baixa porcentagem (presença de duas linhagens celulares);
 - Anomalias cromossômicas submicroscópicas (microalteração não visível em microscopia);
 - Mutações gênicas.
- O cariótipo normal também não exclui a possibilidade de defeitos congênitos causados por fatores ambientais, tais como exposição a agentes teratogênicos.
- Os médicos devem informar sobre as limitações técnicas deste exame e a possibilidade de alterações clínicas com cariótipo normal, bem como a disponibilidade de exames complementares.
- Ao interpretar os resultados, deve-se considerar que algumas alterações cromossômicas podem não estar associadas a defeitos congênitos, e que algumas anormalidades equilibradas nos pais, quando herdadas de forma desequilibrada, podem resultar em defeitos congênitos nos filhos. Por isso a eventual necessidade de cariótipo dos genitores.
- A amostra será utilizada somente para o exame solicitado e o resultado do exame é confidencial e será enviado somente ao médico ou ao paciente.
- Alguns materiais podem ser armazenados fixados e, se houver viabilidade, poderá ser realizado exame complementar posterior (consultar).

I.1 Cariótipo Constitucional pré-natal

Aplica-se a amostras de Vilo Corial, Líquido Amniótico e Sangue fetal

- Esse exame é indicado para detecção de alterações cromossômicas numéricas ou estruturais que podem estar associadas à indicação/suspeita clínica.
- O laboratório poderá solicitar coleta de nova amostra (ou outro tecido) se a amostra enviada estiver inadequada para o exame ou a amostra recebida em condições favoráveis não apresentar crescimento celular *in vitro* após alguns dias de cultura.
- O material a ser coletado será definido pelo médico de acordo com a semana gestacional em que o exame for realizado. As coletas de Vilo corial, Líquido amniótico ou sangue de cordão umbilical são procedimentos médicos, orientados por ultrassonografia, e não são realizados no DLE.
- Em amostras de Vilo Corial o prazo de 10 dias pode ser estendido para até 20 dias devido à necessidade de cultura celular prolongada.
- Raramente pode ocorrer falso mosaicismo e presença de anormalidades cromossômicas em células da placenta que não ocorrem nas células do feto (1-2% dos casos de vilo corial) ou contaminação com material materno (1/250 amostras de vilo corial e líquido amniótico).
- As amostras de cordocentese serão triadas para a presença de hemoglobina fetal com o objetivo de excluir a presença/contaminação com material materno.
- Eventualmente pode haver necessidade e/ou indicação de complementar o resultado com o cariótipo dos genitores.

1.2 Cariótipo Constitucional pós natal

Aplica-se a amostras de Sangue periférico e biópsia de pele (fibroblastos)

- Trata-se de um exame com o propósito de determinar a presença de alterações cromossômicas constitucionais (congenitas) que podem estar relacionadas ao quadro clínico do paciente, ao risco de ser afetado por uma determinada condição ou de ter filhos portadores de alteração cromossômica.
- Caso a amostra coletada seja considerada pelo laboratório inadequada para o exame poderá ser solicitado coleta da mesma.
- Por se tratar de um exame que depende do crescimento celular, mesmo amostras recebidas em condições favoráveis podem não apresentar crescimento celular *in vitro* e resultar em coleta.
- A solicitação de coleta de sangue periférico é realizada o mais breve possível (cerca de 7 dias após o recebimento da amostra) no entanto, alguns casos podem necessitar de complementação de material para conclusão do resultado.
- Eventualmente pode haver necessidade e/ou indicação de complementar o resultado com o cariótipo dos genitores.

1.3 Cariótipo para diagnóstico de doenças hematológicas

Aplica-se a amostras de Sangue periférico e medula óssea

- Trata-se de um exame com o propósito de determinar a presença de alterações cromossômicas adquiridas, relacionadas a quadro clínico de doença onco-hematológica.
- A coleta de amostra de sangue periférico para diagnóstico de doença hematológica é indicada somente na presença de mais de 20% de blastos na circulação periférica.
- Caso a amostra coletada seja considerada pelo laboratório inadequada para o exame poderá ser solicitado coleta da mesma. No caso de coleta de sangue periférico poderá ser recomendada a coleta de amostra de medula óssea.
- Por se tratar de um exame que depende do crescimento celular, mesmo amostras recebidas em condições favoráveis podem não apresentar crescimento celular *in vitro* e resultar recomendação de coleta, que será avaliada e realizada a critério do médico assistente.
- Ao interpretar os resultados, também deve-se considerar que algumas alterações cromossômicas detectadas podem ser constitucionais, sendo necessária a confirmação com cariótipo constitucional.

1.4 Cariótipo de produtos de concepção

Aplica-se a amostras de abortamento

- O cariótipo é importante para avaliar o prognóstico reprodutivo da paciente, em especial em casos de abortos de repetição, após procedimentos de reprodução assistida ou em casos de idade materna maior que 35 anos.
- O material coletado deve conter vilosidade coriônica e/ou tecido fetal (pele ou cordão umbilical).
- Abortamentos espontâneos ocorrem aproximadamente em 15 a 20% das gestações conhecidas. Considerando o período inicial, em que ainda não se tem conhecimento da gestação, a frequência de abortamento chega de 30 a 40%.

- As alterações cromossômicas são responsáveis por 40-60% dos abortos antes da 12ª semana gestacional, principalmente as aberrações cromossômicas numéricas.
- A amostra recebida no laboratório será avaliada e será processada somente após ser certificada a presença de material fetal. Caso seja constatado que o material é inadequado para estudo citogenético, ou seja, não há presença de material fetal, apenas decídua (tecido materno) e coágulos na amostra, o material não será cultivado e será informada imediatamente a ausência de material adequado.
- O cariótipo fetal é obtido a partir de células em divisão, sendo necessário que as células colocadas em cultura estejam viáveis (vivas). Por esse motivo, o crescimento celular pode ser dificultado pelo tempo de envio do material ao laboratório e na ocorrência de abortamento retido por muitos dias.
- A contaminação do material pode impedir o crescimento celular, por isso é importante que a coleta tenha sido realizada em meio apropriado e em condições assépticas.
- O prazo de entrega do laudo é de cerca de 30 dias, período necessário para a proliferação das células em cultura, que pode variar de acordo com o material.
- Amostras adequadas serão mantidas em cultura pelo tempo previsto para liberação do laudo, porém alguns casos podem não apresentar crescimento celular e o exame não terá o resultado para o cariótipo fetal. De acordo com a literatura poderá ocorrer falha no crescimento celular entre 15 a 40% dos casos, sobretudo nos casos de aborto retido.
- Eventualmente pode haver necessidade e/ou indicação de complementar o resultado com o cariótipo dos genitores.

2. CMA

Aplica-se a amostras enviadas para análise cromossômica por *microarray*.

- A análise cromossômica por *microarray* é um teste genético complexo, eficiente na identificação de alterações no número de cópias de regiões do DNA do paciente, que podem estar relacionadas ou serem a causadora de distúrbios genéticos.
- Para isso são utilizados oligonucleotídeos que se ligam a determinadas regiões do DNA, permitindo pesquisar se esta região está ausente ou presente, e em que quantidade.
- Esse exame analisa de forma simultânea todo o genoma humano. O resultado do paciente é alinhado e comparado com a sequência referência do DNA humano, para o que é considerado normal na população, de acordo com a literatura médica atual.
- As alterações genéticas encontradas no paciente serão relacionadas com suas informações clínicas, de forma a tentar encontrar a alteração que levou a sua condição médica. A busca de informações sobre as alterações genéticas é realizada com o auxílio de softwares especializados, juntamente com banco de dados e literatura médica especializada.
- São limitações do teste:
 1. Este exame não detecta translocações balanceadas, uma vez que nestas não ocorre alteração no número de cópias e sim mudança de localização de determinada região no genoma. Também não é possível caracterizar e/ou definir rearranjos cromossômicos.
 2. Alterações no número de cópias em mosaicismos podem não ser identificadas pelo presente teste.

3. Devido a limitações técnicas do exame, existem regiões do genoma que ainda não podem ser analisadas. Assim, algumas alterações não podem ser detectadas por este teste. O médico deverá decidir a necessidade de outros testes para a complementação do resultado.
 4. A interpretação dos resultados será baseada na informação disponível na literatura médica atual, refletindo o estado de conhecimento científico no momento em que este laudo for emitido. Em alguns casos, a classificação e interpretação de algumas variações genéticas podem mudar à medida que novas informações científicas ficarem disponíveis.
 5. Com o avanço do conhecimento científico, é possível que uma reinterpretação dos resultados possa levar a novas informações sobre a condição clínica. Tal reinterpretação deve ser solicitada pelo médico e implicará em custos adicionais. No entanto, poderá não ser possível reinterpretação dos dados em uma data futura e nesse caso será necessário um novo teste completo em nova amostra.
 6. Os testes genéticos podem indicar maior ou menor probabilidade de que o paciente venha a ser afetado pela condição identificada, porém não garantem certeza da manifestação de uma doença ou condição desfavorável.
 7. Algumas das alterações gênicas e variações raras no DNA dos indivíduos podem não ser detectadas. Outras alterações detectadas poderão ser de significado funcional e clínico desconhecidos. Nestes casos o médico assistente é o profissional qualificado para orientar a conduta a ser seguida.
- Em alguns casos, poderá ser necessário testar outros membros da família para complementar o resultado. Achados relevantes, não relacionados à indicação clínica, no paciente ou membro da família, poderão ser informados quando importantes para o aconselhamento genético. Esses achados devem ser avaliados e interpretados pelo médico solicitante visando minimizar a ansiedade e estresse psicológico que as informações genéticas podem ocasionar.
 - Os métodos utilizados nestes exames não têm como objetivo a investigação de paternidade nem de outras condições clínicas além daquelas especificadas na solicitação.
 - A tecnologia e os testes realizados nos exames genéticos pelo DLE - Medicina laboratorial são aqueles considerados os mais avançados no momento. É possível que a metodologia do exame seja modificada no futuro, não havendo obrigação do DLE em refazer o exame em indivíduos já testados sem que isto implique em um novo exame.

INSTRUÇÕES PARA ENVIO

Nas cidades do Rio de Janeiro e São Paulo e suas respectivas regiões metropolitanas, as amostras poderão ser retiradas pelo Laboratório DLE, sem custo adicional, desde que o serviço seja solicitado com antecedência mínima de um dia.

Para as demais localidades consultar a disponibilidade de logística, prazos e valores através do Canal do Cliente pelo telefone 4020-8080 (de segunda a sexta das 08h às 18h - ao custo de uma ligação local de qualquer cidade do Brasil).

Dias para recebimento de amostras

NTO Rio de Janeiro

De segunda à sexta, das 08h às 16h.

NTO São Paulo

De segunda à sexta, de 08h às 16h.

Sábados, de 08h às 11h.

Atente para o agendamento de coletas de amostras críticas em dias anteriores a feriados e finais de semana, pois um atraso na entrega poderá comprometer a estabilidade da amostra.

Em caso de dúvida, antes de realizar a coleta do exame, consulte o Canal do Cliente para certificar-se quanto ao tipo de frasco para coleta, estabilidade, acondicionamento e meio de cultura para conservação da amostra durante o transporte.

Resultados

A fim de garantir a rastreabilidade do processo, o status da amostra pode ser acompanhado desde a chegada ao Laboratório DLE até o resultado final através de nosso site (dle.com.br).

Acesse **Resultados Online** com o login e senha fornecidos pelo DLE.

ÍNDICE DE SINONÍMIA

A

a-CGH (*Array-comparative genomic hybridization*), 32, 33, 34, 35
Análise cromossômica por *microarray*, 32, 33, 34, 35
Array-CGH, 32, 33, 34, 35
alta resolução, Cariograma com, 25
alta resolução, Análise cromossômica por *microarray* com, 33
aborto, Cariótipo de, 20
aborto, análise cromossômica por *microarray* em, 35
âmnio, Cariótipo de, 18
âmnio, análise cromossômica por *microarray* em, 34
amniocentese, Cariótipo de, 18
amniocentese, análise cromossômica por *microarray* em, 34
anemia de Fanconi, Cariótipo para, 24
array 180K, 32
array 750K, 32
array HD, 33
array 400K, 33

B

banda G , Cariótipo, 15
banda G em Líquido Amniótico, Cariotipo, 18
banda G em material de aborto, Cariotipo, 20
banda G para pesquisa de cromossomo filadelfia ou philadelphia, Cariotipo, 21,22
banda G de sangue fetal, Cariotipo com, 17
banda G em viló corial, Cariotipo com, 19
banda G para doenças hematológicas, Cariótipo com, 21,22
biópsia de pele, Cariótipo de, 23
biópsia de viló corial, Cariótipo de, 19
biópsia de viló corial, Análise cromossômica por *microarray*, 35
BVC, Cariótipo de, 19

C

células mesenquimais, Cariótipo em, 26
células em cultura, Cariótipo em, 26
células em cultura, Análise cromossômica por *microarray*, 35
CMA (*Chromosomal microarray analysis*), 32,33,34,35
CMA (*Chromosomal microarray analysis*) com alta resolução, 33
constitucional, Cariótipo, 15
constitucional de alta resolução, Cariótipo, 25
cordão, Cariótipo de, 17
cordão, análise cromossômica por *microarray*, 32,33
cordocentese, Cariotipo por, 17
cordocentese, análise cromossômica por *microarray*, 32,33

D

doenças hematológicas em medula óssea, Cariograma para, 21
doenças hematológicas em sangue periférico, Cariograma para, 22

DEB, Cariótipo com, 24
diagnóstico de leucemia, Cariótipo para, 21,22
DEB teste, 24

F

feto (material de aborto), Estudo genético do, 20,35
fibroblasto, Pesquisa de mosaicismo cromossômico em, 23
fibroblastos em pele, Cariótipo de, 23

H

higroma cístico, Cariótipo em, 26

I

instabilidade cromossômica, Cariótipo de, 24

L

LA, Cariótipo de, 18
LA, análise cromossômica por *microarray* em, 34
líquido amniótico, Análise Cromossômica de, 18
líquido amniótico, análise cromossômica por *microarray* em, 34
líquido amniótico, Cariograma em, 18
líquido amniótico, Cariotipagem em, 18
líquido amniótico com Banda G, Cariótipo de, 18
leucemia, Cariotipagem para, 21,22
líquido amniótico, Citogenética de, 18
leucemia no sangue periférico, Estudo cromossômico para, 22

M

material de aborto (conceito), Cariograma em, 20
material de aborto (conceito), análise cromossômica por *microarray*, 35
material vilo corial, Cariograma em, 19
material vilo corial, análise cromossômica por *microarray*, 35
marcadores tumorais em sangue periférico, Cariótipo de, 22
material de placenta, Cariótipo de, 20
material de curetagem, Estudo genético de, 20
microarray, Análise Cromossômica por, 32,33,34,35
mosaicismo na pele, Pesquisa de, 23
mosaicismo no sangue, Pesquisa de, 16

P

Papel filtro, análise cromossômica por *microarray* em sangue em, 32, 33
pele, Cariótipo de, 23
placenta, Cariótipo de, 19, 20
placenta, análise cromossômica por *microarray* em material de, 35
Pesquisa de mosaicismo em sangue periférico, 16
pesquisa de mosaicismo pigmentar, Cariótipo para, 16, 23
Pesquisa de quimera pós TMO, 21, 22
Produto de concepção, cariótipo em, 20

Produto de concepção, análise cromossômica por *microarray* em, 35
projetos de pesquisa, Cariótipo para, 26

Q

quebras cromossômicas, Cariograma para, 24
quebras cromossômicas, Cariótipo de, 24

R

restos ovulares, Cariótipo de, 20
restos ovulares, análise cromossômica por *microarray*, 35
restos placentários, Cariótipo de, 20
restos placentários, análise cromossômica por *microarray*, 35

S

sangue, Cariótipo de, 15
sangue, análise cromossômica por *microarray*, 32, 33
sangue de cordão umbilical, Cariótipo de, 17
sangue de cordão umbilical, análise cromossômica por *microarray*, 32, 33
Sangue em papel filtro, análise cromossômica por *microarray* em, 32, 33
sangue fetal, Cariótipo em, 17
sangue fetal, Cariotipagem em, 17
sangue fetal, análise cromossômica por *microarray*, 32, 33
sangue periférico, Cariótipo em, 15
sangue periférico, Cariotipagem em, 15
sangue periférico, análise cromossômica por *microarray*, 32, 33
SNP-array, 32, 33, 34, 35
sangue em alta resolução, Cariótipo de, 25
síndrome, Cariótipo para, 15
síndrome de Pallister Killian, Cariótipo para, 23

V

Vilo Corial, Cariótipo de, 19
Vilo Corial, análise cromossômica por *microarray*, 35
vilosidade coriônica, Cariótipo de, 19
vilosidade coriônica, análise cromossômica por *microarray*, 35



*Genética Humana,
Doenças Raras
e Genômica*

Para informações complementares e solicitação de material.

Canal do Cliente 4020-8080

Seg. a Sex. das 08h às 18h | Ao custo de uma ligação local.

Rio de Janeiro - RJ

Núcleo Técnico Operacional / Unidade de Coleta

Av. Nossa Senhora de Copacabana, 1018 - 7º e 8º andares
Copacabana - Rio de Janeiro - RJ - 22060-002
Tel. (21) 3299-3000

São Paulo - SP

Núcleo Técnico Operacional / Unidade de Coleta

Rua Pedro de Toledo, 164 - 11º e 12 andares
Vila Clementino - São Paulo - SP - 04039-000
Tel. (11) 5907-8181



DLE.com.br