



Manual de Colheitas e Envio de Material para o Laboratório

2016

Aprovado em 29 de março de 2016

ÍNDICE

Objetivos	5
Introdução	5
Exames de Anatomia Patológica / Patologia Cirúrgica	7
1.1 Informações solicitadas para todos os exames	7
1.2 Biópsias histológicas	7
1.3 Peças cirúrgicas.....	9
1.4 Exames de patologia de autópsia	11
1.5 Exames citológicos.....	11
1.6 Exames com Técnicas Complementares.....	15
1.7 Listagem de Exames.....	19
2. Exames de Diagnóstico Genético	20
2.1 Exames de identificação de variantes genéticas constitucionais	20
2.2 Exames de identificação de variantes genéticas somáticas do cancro...	22
2.3 Exames de identificação de agentes infecciosos em tecidos humanos ...	24
2.4 Envio das amostras	26
2.5 Lista de Exames.....	27
3. exames de Parentescos e Identificação Genética	33
3.1 Exames de investigação de parentesco genético/identificação genética/perfil genético	33
3.2 Exames de investigação de parentesco genético/identificação genética /perfil genético a partir de material biológico que não sangue nem esfregaço bucal	36
3.3 Envio e guarda das amostras	37
3.4 Lista de Exames.....	37

OBJETIVOS

Descrever os procedimentos relativos à submissão de amostras biológicas ao Laboratório Ipatimup Diagnósticos.

Introdução

A qualidade de um exame laboratorial depende da boa execução de três fases: pré-analítica, analítica e pós-analítica. A fase pré-analítica tem início antes da chegada do material ao laboratório, e a participação de todos os profissionais envolvidos é muito importante para que o diagnóstico final seja feito com o maior rigor possível e possa proporcionar um tratamento adequado ao doente. Identificação correta da amostra, preenchimento correto da requisição, colheita e processamento (ex.: fixação) adequados do material são os itens fundamentais da fase pré-analítica. Por esta razão, o Ipatimup Diagnósticos, através deste manual, pretende informar quais os exames oferecidos, e dar todas as informações necessárias para a correta obtenção e preservação das amostras de forma a manter a sua boa qualidade. Os métodos em uso são revistos anualmente, de acordo com recomendações internacionais do College of American Pathologists (CAP). Amostras inadequadas dificultam ou impossibilitam um diagnóstico correto, completo e preciso.

EXAMES DE ANATOMIA PATOLÓGICA / PATOLOGIA CIRÚRGICA

1.1 INFORMAÇÕES SOLICITADAS PARA TODOS OS EXAMES

É importante identificar o frasco que contém a amostra com dois elementos identificativos, normalmente nome do utente e um dado numérico único de cada utente (nº de utente, data de nascimento) e a requisição com o nome, a data de nascimento e filiação do doente, morada e telefone para contato, o nome do médico que solicitou o exame e a data e hora da colheita, tipo de fixador utilizado e o local para onde se deve enviar o relatório final. Com as informações necessárias devidamente preenchidas poderemos fazer a diferenciação de doentes com nomes iguais e gerar registos informáticos completos e corretos. Informações clínicas relativas à idade e género do doente, a topografia de lesão, o diagnóstico clínico pré e pós-operatório, problemas a esclarecer, exames e lesões prévias (especialmente lesões malignas), resultados de tratamentos ou exames complementares são extremamente úteis para um diagnóstico anátomo-patológico preciso.

· Procedimentos de biossegurança: as amostras de patologia cirúrgica devem ser consideradas infetantes até serem fixadas. Respeitar as recomendações universais de manuseio de amostras obtidas de doentes.

1.2 BIÓPSIAS HISTOLÓGICAS

As biópsias correspondem a fragmentos de pequenas dimensões, únicos ou múltiplos, em geral com forma irregular e sem aspeto macroscópico característico. Estão incluídas nesta categoria as biópsias endoscópicas do trato gastrointestinal, biópsias transbrônquicas, biópsias vesicais randomizadas, biópsias por agulha grossa ("core biopsy") da mama, próstata, fígado, rim e outros órgãos em que este tipo de exame possa ser realizado, "punch" de pele, biópsias do colo uterino, produtos de curetagem do endométrio (excepto nos casos de produto de abortamento), entre outros. No caso de biópsias muito pequenas sugere-se a sua colocação em papel de filtro antes da sua introdução no frasco. Este procedimento garante uma melhor orientação dos fragmentos, o que facilita a sua ulterior manipulação no laboratório. É importante identificar o frasco com dois elementos identificativos, normalmente nome do utente e um dado numérico único de cada utente (nº de utente, data de nascimento).

·Fixação: a amostra deverá ser fixada em formol tamponado a 10%, imediatamente após a colheita. Se a imersão e, fixador não for imediata, deve ser informado o tempo de “isquemia fria” e a hora exata de início de fixação. Quando o material for fixado noutra local favor informar igualmente o tempo (exato) do início do processamento. O volume ideal de formol tamponado para tecido é de 10 volumes de formol tamponado para um volume de tecido. Os recipientes também devem ter um volume ideal para uma boa fixação (no mínimo 10 vezes o volume do tecido) e devem ser hermeticamente fechados. Encaminhar a biópsia para o laboratório o mais rapidamente possível.

Sempre que seja necessário enviar material a fresco para o laboratório, solicita-se um contato telefónico prévio (2255 70 700) de forma a garantir que o material a fresco permaneça não mais de 30 minutos sem fixação ou tratamento adequado pelo patologista. Quando não for possível enviar o material para o laboratório neste período, ele deve ser mantido no frigorífico (4°C) até ser enviado, indicando a hora da colheita.

·Método: depois da descrição macroscópica, material representativo é processado, incluído em parafina, cortado e corado por hematoxilina-eosina.

·Amostras inadequadas: fixação inadequada (devido a uma quantidade insuficiente de formol tamponado em relação ao volume da amostra, ou utilização de fixador inadequado), falta de identificação do doente e/ou ausência de dados clínicos relevantes podem condicionar a aceitação da amostra para exame..

·Tempo de conclusão do relatório: dois dias úteis após a receção da amostra no laboratório, para todos os exames que não necessitem de procedimentos (como a descalcificação) ou estudos complementares (histoquímica e imunohistoquímica)..

·Cuidados específicos para alguns tipos de biópsia:

- Medula óssea: Enviar todos os dados relativos ao hemograma e mielograma. No caso de estadiamento, se o diagnóstico primário não foi realizado no Ipatimup, solicitam-se lâminas e relatório da biópsia que estabeleceu o diagnóstico prévio para revisão e correlação.

- Fígado: Devem ser informados os dados clínicos e analíticos (por exemplo, relativos a serologia para hepatites).

- Pele no contexto de doença inflamatória: deverá ser enviado, preferencialmente, um fragmento em formol tamponado e um fragmento em solução de Mitchel (para imunofluorescência). Estas biópsias de pele devem ser

acompanhadas de dados clínicos e analíticos

- Testículo: deverá ser enviada, preferencialmente, em formol tamponado 10% e encaminhada imediatamente ao laboratório (caso permaneça mais de 4 horas na solução referida, o material torna-se inapropriado para o corte e análise, com prejuízo para o diagnóstico e para o doente). Informações clínicas relativas às condições endócrinas do doente, terapêutica hormonal e motivos da biópsia são fundamentais para a análise.

- Endométrio: recomenda-se não utilizar gaze na colheita da amostra e sua posterior transferência para o frasco pois a gaze retém partes do endométrio. Isto é importante, especialmente após a menopausa, em que a quantidade de endométrio disponível é geralmente pequena. O mesmo se aplica à curetagem endocervical. Devem-se incluir na requisição informações sobre a idade, data da última menstruação e uso de terapêutica hormonal.

1.3 PEÇAS CIRÚRGICAS

São consideradas como peças cirúrgicas as amostras de excisão de lesão, as resseções parciais ou totais de órgãos, neoplasias de grandes dimensões e produtos de amputação de membros.

Fixação: a amostra deverá ser fixada em formol tamponado a 10%, logo após sua obtenção. Na requisição deve ser informado o tempo de “isquemia fria” e o tempo (exato) de início de fixação. Quando o material for fixado noutra local favor informar igualmente o tempo (exato) do início do processamento. O volume ideal de formol tamponado para tecido é de 10 volumes de formol tamponado para um volume de tecido. Os frascos também devem ter um volume ideal para uma boa fixação (no mínimo 10 vezes o volume da peça).

Quando a peça for demasiado grande para se atingir uma proporção adequada de formol tamponado para tecido, deve-se providenciar o transporte imediato da mesma para o laboratório para minimizar os efeitos da autólise. No caso de resseções maiores, como mastetomias, segmentos de intestino e produtos de amputação de membros se a peça não puder ser remetida de imediato ao Laboratório, sugere-se que a mesma seja colocada no frigorífico (4°C) até o momento do envio indicando a hora da colheita. Sempre que for necessário enviar material a fresco para o laboratório, solicita-se um contato telefónico prévio (225 570 700) de forma a garantir que o material permaneça não mais de 30 minutos sem fixação ou tratamento adequado pelo patologista.

Informações adicionais: no caso de disseções de gânglios linfáticos, pede-se que sua origem anatômica, assim como os diferentes níveis, sejam indicados na requisição. No caso de excisão de lesões malignas, solicita-se a identificação das margens cirúrgicas para avaliação do seu comprometimento, por exemplo. com um fio de sutura num determinado ponto anatômico que seja identificado na requisição. Em caso de peças de configuração irregular, pode-se colocar a mesma num cartão e fazer um desenho das estruturas próximas para melhor orientação ou descrever detalhadamente as relações anatômicas das margens cirúrgicas na requisição.

Método: depois da descrição macroscópica, material representativo é processado, incluído em parafina, cortado e corado pela hematoxilina-eosina.

·Amostras inadequadas: fixação inadequada (devido a uma quantidade insuficiente de formol tamponado em relação ao volume da amostra, ou utilização de fixador inadequado), falta de identificação do doente e/ou ausência de dados clínicos relevantes podem condicionar a aceitação da amostra para exame..

·Tempo de conclusão do relatório: dois dias úteis após a recepção da amostra no laboratório, desde que a amostra esteja suficientemente fixada e, para todos os exames que não necessitem de procedimentos (como a descalcificação) ou estudos complementares (histoquímica e imunohistoquímica).. .

·Cuidados específicos para alguns tipos de amostras:

- Gânglios linfáticos: devem ser excisados totalmente e enviados preferencialmente a fresco, desde que o Laboratório seja previamente contatado (225 570 700). Em caso de dúvida colocar em formol tamponado.

- Osso: a amostra deve sempre ser acompanhada de exames imagiológicos da lesão.

- Embriões e fetos (< 22 semanas de gestação): deverão ser colocados em frascos com formol tamponado. Fetos maiores devem ser refrigerados até ao transporte. Ambos devem vir sempre acompanhados da placenta. Dados clínicos da mãe (e do pai quando for indicado para doenças genéticas) e sobre a gestação e o parto são essenciais para um exame anátomo-patológico adequado. Como se trata de exame de maior complexidade, o tempo de resposta é superior ao das peças cirúrgicas (cerca de 20 dias úteis).

1.4 EXAMES DE PATOLOGIA DE AUTÓPSIA

Apesar de não se realizarem autópsias nas nossas instalações, a Unidade recebe material colhido no decurso de exames necrópsicos (fragmentos de tecido ou colheitas citológicas) para processamento, ou já processado, e realização de relatórios anátomo-patológicos. Para tal é essencial o envio dos dados relativos às circunstâncias da morte, dados clínicos, achados macroscópicos relevantes e hipóteses de diagnóstico. Todos os procedimentos previamente citados devem ser utilizados em material de autópsia/necrópsia.

1.5 EXAMES CITOLÓGICOS

1.5.1 Citologia ginecológica

O exame citológico cérvico-vaginal é um exame que consiste em comparar a imagem observada ao microscópio com a imagem normal da célula e para que uma amostra possa ser adequadamente observada ao microscópio, é necessário que seja de boa qualidade e esta qualidade depende dos procedimentos de colheita, fixação e transporte para o laboratório. Estes exames podem ser feitos de forma convencional ou através dos métodos conhecidos como citologia em meio-líquido.

· Colheita: antes da colheita do material, tanto as lâminas de vidro (para citologia convencional) como os frascos (para citologia em meio-líquido) devem estar devidamente identificados. A colheita deve ser feita com espátula de Ayre ou, preferencialmente, com escovas (tipo Cytobrush®). Após a colheita da secreção do fundo de saco vaginal (que deve ser esfregada rapidamente e de maneira uniforme em metade da lâmina-método convencional), usar a ponta irregular da espátula de Ayre (com a parte mais alta no orifício cervical externo) ou a escova e rodar em toda a extensão da mucosa cervical de maneira delicada para evitar sangramento. De seguida, esfregar o material obtido na metade restante da lâmina, em sentido perpendicular ao esfregaço obtido do fundo de saco. O material colhido deve ser esfregado sobre a lâmina de forma regular, para obter um esfregaço o mais fino possível. Toda a superfície da espátula ou da escova deve encostar na lâmina para se fazer o esfregaço. O movimento para preparação do esfregaço deve ser delicado, porém firme e num sentido único. Evitar movimentos circulares, pois frequentemente causam artefactos com esmagamento e distorção das células. Usar

preferencialmente uma única lâmina por doente. Imediatamente após a preparação dos esfregaços, imergir a lâmina no fixador citológico procurando cobrir totalmente a área que contém o esfregaço. É muito importante que o material seja fixado imediatamente para que se evitem artefactos de secagem, que prejudicam muito a análise do material. No caso de citologia em meio-líquido, após a colheita, a espátula ou escova devem ser imersas e "lavadas" em frasco contendo o meio preservante.

- Fixação: álcool a 95% ou "sprays" com soluções fixadoras no caso de citologia convencional, e solução do tipo Preserv Cyt®, no caso de citologia em meio-líquido.

- Método: as lâminas de citologia convencional são diretamente coradas pela técnica de Papanicolaou e analisadas ao microscópio. As lâminas de citologia em meio-líquido são previamente processadas em equipamento próprio (Thinprep®). O resultado é fornecido através de relatório interpretativo com a nomenclatura recomendada pelo consenso de Bethesda.

- Amostras inadequadas: as amostras são consideradas não aceitáveis de acordo com os seguintes critérios: lâminas ou frascos não acompanhados pelo formulário de requisição; requisição que não contém dados suficientes de identificação da doente ou contém informações discrepantes; lâminas quebradas que não podem ser reconstituídas; lâmina sem identificação apropriada da doente.

- Tempo de conclusão do relatório: dois dias úteis após a receção da amostra para citologias de rotina e quinze dias para citologias de rastreio, de acordo com protocolos.

- Cuidados específicos:

- Em relação à mulher:

- não ter feito lavagens ou aplicação de medicamentos intra-vaginais nas últimas 48 horas;

- não ter tido relações sexuais nas últimas 24 horas;

- não estar no período menstrual.

- Preenchimento dos dados pessoais: deverá constar sempre o nome completo da mulher, data de nascimento e morada ou telefone para contato.

- Informações clínicas importantes: data da colheita; data da última

menstruação; estado hormonal (ex.: gravidez, pós-menopausa); método contraceptivo utilizado; história prévia de neoplasia intra-epitelial, cancro do colo uterino ou extra-genital; história de quimioterapia sistémica; história de radioterapia pélvica; história de cirurgia ginecológica, criocirurgia ou electrocauterização; história de exames citológicos ou histológicos anormais; anormalidades presentes ao exame ginecológico; factores de risco para o cancro do colo uterino (por ex.: doença sexualmente transmissível; actividade sexual precoce, número de gestações).

1.5.2 Citologia não ginecológica

O exame de citologia não ginecológica inclui o exame de líquidos e secreções. Consideraremos em separado a citologia aspirativa, por constituir um exame específico em que a colheita é realizada no nosso laboratório. Como nos demais exames, a boa qualidade da amostra depende dos procedimentos de colheita, fixação e transporte para o laboratório. Estes exames podem ser feitos de forma convencional ou através dos métodos conhecidos como citologia em meio-líquido.

· Colheita e fixação:

- Citologia de líquidos: o líquido (ascítico, pleural ou pericárdico ou outro produto de lavado) deverá ser colocado em frasco hermeticamente fechado, ou em seringa, devidamente rotulados, com volume igual de álcool etílico a 50% ou, preferencialmente, a fresco se puderem ser enviados imediatamente ao laboratório. Importante: mais de 4 horas fora do frigorífico ou mais de 24 horas no frigorífico (4°C) sem fixação inutiliza a amostra, sendo necessária nova colheita. Enviar sempre o volume total do líquido removido, informações clínicas e hipóteses de diagnóstico. No caso de citologia em meio-líquido colocar o líquido num frasco contendo o meio preservante do tipo: Preserv Cyt®.

- Citologia de expectoração: considera-se ideal o envio de três amostras diferentes, de expectoração profunda, obtida pela manhã, às vezes estimulada por inalação de agente mucolítico, em três dias independentes. As amostras devem ter um volume de 5 a 10 ml e deve ser colocadas em recipientes descartáveis, de boca larga, com capacidade de 35 a 50 ml, previamente rotulados e identificados. Se for possível enviar o material diretamente ao laboratório, deixar sem fixação. O material poderá ficar no frigorífico (4°C) por um período máximo de 24 horas. Importante: mais de 4 horas fora do frigorífico ou mais de 24 horas no frigorífico (4°C) sem fixação inutiliza a

amostra, sendo necessária nova colheita. Se não for possível o envio imediato, fixar a amostra em álcool a 50%. Em caso de citologia em meio líquido, colocar o líquido num frasco contendo o meio preservado tipo Preserv Cyt®.

- Citologia de urina: o ideal é o envio de amostra que poderá ser colhida em qualquer horário do dia, mas com a recomendação de permanecer 2 horas sem urinar antes da colheita. As amostras, que devem ter um volume de 100 ml, deverão ser colocadas em recipiente descartável, de boca larga, previamente rotulado e identificado. Se for possível enviar o material diretamente ao laboratório, deixar sem fixação. O material poderá ficar no frigorífico (4°C) por um período máximo de 24 horas. Importante: mais de 4 horas fora do frigorífico ou mais de 24 horas no frigorífico sem fixação inutiliza a amostra, sendo necessária nova colheita. Se não for possível o envio imediato, fixar a amostra em álcool a 95%. Em caso de citologia em meio líquido, colocar o líquido em um frasco contendo o meio preservante do tipo Preserv Cyt®.

· Método: os líquidos e urina são citocentrifugados e as lâminas obtidas coradas pela técnica de hematoxilina-eosina e analisadas ao microscópio. As lâminas de citologia em meio-líquido são previamente processadas em equipamento próprio (Thinprep®).

· Amostras inadequadas: as amostras são consideradas não aceitáveis de acordo com os seguintes critérios: amostras não identificadas ou sem conservação adequada. Especificamente, na citologia de líquidos: alta proporção de sangue, líquido coagulado ou autolisado; na citologia de expectoração: saliva em vez de expectoração, fixação inadequada, quantidade insuficiente de material.

· Tempo de conclusão do relatório: dois dias úteis após a receção da amostra no laboratório para todos os exames que não necessitem de estudos complementares.

1.5.3. Citologia aspirativa por agulha fina

A punção aspirativa é um exame rápido e pouco invasivo no qual, através da aspiração, se obtém material para diagnóstico citológico. O nosso laboratório dispõe de serviço de colheita do material guiada por ecografia. Para realização de punção aspirativa, marcar o exame com antecedência no laboratório (225 570 700). Está à disposição de todos os doentes um folheto explicativo do método. O laboratório também examina material de punções aspirativas realizadas por outros

médicos.

· Colheita: após receção e registo do utente, com atribuição de um número de identificação, o paciente é atendido, por ordem de chegada, no consultório médico. O médico examina a requisição e os exames radiológicos e laboratoriais previamente realizados tomando conhecimento do local da lesão ou área a ser puncionada. . O utente deve informar o médico da medicação que esteja tomar. O utente é orientado para se colocar na posição mais adequada para a realização do exame. Realiza-se uma ecografia do local a ser puncionado, garantindo a presença da agulha na lesão a ser puncionada e procede-se à assepsia local com álcool a 95% e à técnica de punção aspirativa. . Em seguida, realizam-se os esfregaços e/ou colheita para meio líquido.

· Fixação e coloração: as lâminas podem ser secas ao ar ou fixadas imediatamente em álcool a 95%. As lâminas secas ao ar são coradas pela técnica de Diff Quik e as lâminas fixadas em álcool são coradas pela técnica de hematoxilina-eosina.

· Amostras inadequadas: as amostras são consideradas não aceitáveis de acordo com os seguintes critérios: excesso de sangue, insuficiência de material, fixação inadequada e identificação inadequada das amostras..

· Tempo de conclusão do relatório: dois dias úteis após a receção ou colheita da amostra no laboratório.

1.5.4. Cuidados específicos para alguns tipos de amostras

Colheita de tecido adiposo abdominal para pesquisa de substância amilóide: o doente deve fazer-se acompanhar do motivo clínico que suscitou o pedido do exame. Este exame é realizado sem controlo ecográfico e a amostra é colhida para meio líquido, m realização de citobloco e técnicas complementares.

1.6 EXAMES COM TÉCNICAS COMPLEMENTARES

1.6.1 Exame de imuno-histoquímica

É um exame realizado em material de patologia cirúrgica, de autópsia ou mesmo em material citológico, para se demonstrar a presença de determinados antigénios nos tecidos/células. Este exame auxilia no diagnóstico preciso das lesões

(histogénese/diferenciação de neoplasias e demonstração de agentes etiológicos) e também permite detetar factores de prognóstico e preditivos da terapêutica (por exemplo: recetores hormonais em carcinomas da mama).

- Fixação: as técnicas imuno-histoquímicas são realizadas em material preferencialmente fixado em formol tamponado a 10%. O tempo de fixação mínimo é de 6 a 72 horas. Na requisição deve ser informado o tempo de “isquemia fria” e a hora exata do início da fixação. Quando o material for fixado noutra local deve informar igualmente o tempo (exato) do início do processamento. Em algumas situações pode ser necessário o uso de material congelado sem fixação prévia. Sempre que for necessário enviar material a fresco para o laboratório, solicita-se um contato telefónico prévio (225 570 700) e o envio do material o mais rapidamente possível.

- Método: a técnica consiste no uso de anticorpos policlonais ou monoclonais para deteção de antigénios específicos nos tecidos ou células.

- Amostras inadequadas: fixação inadequada que não permite a demonstração do(s) antigénio(s).

- Tempo de conclusão do relatório: cinco dias úteis após a receção da amostra no laboratório.

1.6.2 Exame de imuno-fluorescência

É um exame realizado em material de biópsias (por exemplo de pele) para demonstrar a presença de determinados antigénios no tecido. Este exame auxilia no diagnóstico e classificação de lesões como as doenças inflamatórias da pele.

- Fixação: deve ser feita em Solução de Mitchel. Sempre que for necessário enviar material a fresco para o laboratório, solicita-se um contato telefónico prévio (225 570 700) e o envio do material o mais rapidamente possível, indicando a hora de colheita.

- Método: a técnica consiste no uso de anticorpos para deteção de antigénios específicos nos tecidos ou células.

- Amostras inadequadas: fixação inadequada que não permite a demonstração do(s) antigénio(s).

- Tempo de conclusão do relatório: seis dias úteis após a receção da amostra no

laboratório.

1.6.3 Exame de histoquímica enzimática

É um exame realizado em cortes de congelação (de biópsias e raramente de fragmentos retirados de peças cirúrgicas) para o estudo, por exemplo, de alterações da inervação intestinal (disganglionoses). A identificação das diferentes anomalias de inervação intestinal revela-se fundamental para o estabelecimento de um diagnóstico preciso das diferentes disganglionoses e subsequente definição da estratégia terapêutica, só sendo possível pela aplicação de métodos histoquímicos em biópsias rectais e/ou cólicas para a pesquisa da actividade das enzimas envolvidas no processo.

·Fixação: As biópsias ou fragmentos retirados de peças cirúrgicas, deverão ser enviadas(os) em tubos de eppendorf diretamente colocados em gelo seco. Sempre que for necessário enviar material a fresco para o laboratório solicita-se um contato telefónico prévio (225 570 700) e o envio do material o mais rapidamente possível, indicando a hora da colheita.

·Método: O(s) fragmento(s) cortado(s) no criostato permite(m) a posterior incubação, a 37°C, nos meios correspondentes ao estudo histoquímico, por exemplo, das enzimas acetilcolinesterase e desidrogenase láctica.

·Amostras inadequadas: má qualidade de congelação da amostra ou fixação prévia.

·Tempo de conclusão do relatório: seis dias úteis após a receção da amostra no laboratório.

1.6.4 Exame de Cobas

O teste de Cobas é uma técnica de biologia molecular utilizada para deteção de microorganismos, por exemplo o vírus do Papiloma Humano (HPV). Permite não só detetar este vírus como também classificá-lo nos grupos de baixo e alto risco.

· Colheita: O material é colhido em frascos de citologia em meio-líquido do tipo Preserv Cyt®.

· Amostras inadequadas: amostras com celularidade insuficiente.

· Tempo de conclusão do relatório: até 15 dias úteis após a receção da amostra no laboratório.

1.6.5. Exame de hibridização *in situ*

A técnica de hibridização *in situ* é uma técnica de biologia molecular utilizada especialmente para detetar anomalias génicas ou cromossómicas, numéricas ou estruturais. No nosso laboratório é utilizada para deteção, por exemplo, de amplificação do oncogene HER2/neu em casos de cancro da mama. Nestes casos usamos a hibridização *in situ* pela prata (SISH). Também a utilizamos para deteção da translocação do ALK, ROS1 e 1p/19q e neste caso usamos a fluorescência (FISH).

- Fixação: atualmente as técnicas de FISH podem ser realizadas em material histológico ou citológico, previamente fixado em formol tamponado tamponado a 10% ou álcool a 95%, respetivamente. O tempo de fixação deve ser no máximo de 48 horas. Na requisição deve ser informado o tempo de “isquemia fria” e a hora exata de início de fixação. Quando o material for fixado noutra local deve-se informar igualmente o tempo (exato) do início do processamento.
- Método: a técnica consiste no uso de sondas marcadas com fluorescência ou com cromogénio/prata.
- Amostras inadequadas: fixação inadequada ou excesso de digestão enzimática que não permite a demonstração de cópias do gene.
- Tempo de conclusão do relatório: cinco dias úteis após a receção da amostra no laboratório.

1.6.5 Exames de consultadoria e segunda observação

A nossa Unidade presta serviços de consultadoria e segunda observação em patologia cirúrgica, de autópsia e citopatologia. Estes exames podem ser solicitados pelo médico assistente ou por um patologista com o envio de material adequado (lâminas e/ou blocos de parafina). As técnicas previamente citadas que podem ser feitas neste material (como exames histoquímicos e imuno-histoquímicos) poderão eventualmente ser aplicadas para o diagnóstico definitivo. Além do material, é muito importante que seja enviada a história clínica detalhada e sempre que possível de uma cópia do relatório inicial.

1.7 LISTAGEM DE EXAMES

Anatomia Patológica

Citologia ginecológica/genital, método convencional

Citologia não ginecológica, método convencional

Citologia ginecológica/genital, método de monocamada

Citologia não ginecológica, método de monocamada

Citologia aspirativa por agulha fina - colheita com controlo ecográfico

Citologia aspirativa por agulha fina - exame microscópico

Colheita de tecido adiposo para pesquisa da substância amilóide

Exame extemporâneo

Histológico - biópsia simples, por amostra referenciada

Histológico - biópsia complexa, por amostra referenciada

Histológico - biópsia incisional/excisional, raspagem, curetagem ou de eliminação espontânea

Histológico - peça simples

Histológico - peça complexa

Histológico e histoquímico enzimático (Doença de Hirshprung), por recipiente

Histológico e imunofluorescência, por anticorpo

Imuno-histoquímico, por anticorpo

Consulta ou 2ª opinião, sem processamento

Diagnóstico por técnicas de hibridização in situ (amplificação do gene HER2)

Pesquisa da translocação do gene ALK

Pesquisa da translocação do gene ROS1

Pesquisa de co-deleção 1p19q

Estudo da expressão de PD-L1

HPV Cobas

Determinação da expressão de p16INK4a/Ki-67

2. EXAMES DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO

2.1 EXAMES DE IDENTIFICAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS CONSTITUCIONAIS

Este tipo de exames é realizado após consentimento informado e mediante prescrição médica, através de requisição apropriada, a qual deverá conter o nome (ou outro tipo de identificação) do dador da amostra. A obtenção do consentimento informado, assim como a disponibilização de aconselhamento genético antes, durante e depois da realização do exame genético é da responsabilidade da entidade requisitante.

Podem realizar-se colheitas de sangue ou esfregaço bucal, não sendo necessário que sejam feitas em jejum. Este tipo de exame também poderá ser feito em material biológico de arquivo. As amostras biológicas terão que ser enviadas pela entidade requisitante, que também se responsabilizará pela identificação e custódia das amostras até à sua entrega.

É muito importante identificar corretamente o suporte contendo a amostra com, pelo menos, dois elementos identificativos incluindo o respetivo nome/número de registo do dador da amostra e outro dado como, por exemplo, a data de nascimento ou o número de documento de identificação tendo esses dados que constar da prescrição médica que solicita o exame.

Sempre que se trate de um exame familiar a(s) variante(s) identificada(s) no caso índice deve(m) ser referida(s) na requisição do exame.

2.1.1 Colheita de sangue

A obtenção de sangue (5-10 ml) deverá ser efetuada por punção venosa para tubo com EDTA. A amostra deve chegar ao laboratório de diagnóstico genético num prazo máximo de 48 horas.

Se não for possível remeter no prazo previsto as amostras ao nosso laboratório, os tubos deverão ser armazenados com refrigeração (4°C).

2.1.2 Colheita de células da mucosa bucal

A colheita de células por esfregaço bucal é efetuada com escovilhão apropriado e guardado em tubo de recolha apropriado. Estas amostras deverão ser enviadas o mais rápido possível para o nosso laboratório, idealmente refrigeradas a 4°C.

A colheita de células da mucosa bucal é feita com o escovilhão fornecido, raspando levemente a área interior das bochechas durante cerca de 30 segundos. Deve-se, sempre que possível, obter entre duas a três colheitas.

É necessário ter em atenção o correto manuseamento dos tubos e escovas de forma a evitar a contaminação das amostras por outro DNA humano.

Se não for possível remeter no prazo previsto as amostras ao nosso laboratório, os tubos deverão ser armazenados com refrigeração a 4°C.

2.1.3 Utilização de material biológico de arquivo

Excepcionalmente, e quando a colheita de amostras nas condições descritas nos pontos 2.1.1 e 2.1.2 não for viável, é possível realizar este tipo de exame a partir de fragmento cirúrgico/biópsia fixado em formol tamponado e incluído em parafina. Neste caso deve ser enviado um ou mais blocos de parafina que, idealmente, contenha material livre de neoplasia que será utilizado para extração de DNA.

O laboratório de diagnóstico genético compromete-se a devolver os blocos de parafina à entidade requisitante sempre que a amostra não seja utilizada na totalidade.

2.1.4 Amostras inadequadas

São consideradas amostras inadequadas as seguintes:

- Amostras colhidas em suporte impróprio, não contemplado nos pontos 2.1.1, 2.1.2 e 2.1.3.
- Amostras não identificadas, com identificação deficiente ou identificadas de forma não concordante com a informação constante na requisição do exame.
- Amostras em quantidade insuficiente para análise e/ou que apresentem sinais de má preservação.

2.1.5 Tempo de conclusão do relatório

Dado que os procedimentos inerentes à realização dos diversos tipos de exames e à análise de diferentes tipos de material biológico variam, um relatório de identificação de variantes genéticas constitucionais será entregue num prazo máximo que varia de 10 a 65 dias úteis após a receção/colheita do material biológico.

Como regra geral, para exames que impliquem a análise de variantes genéticas previamente identificadas ou exames simples (análise até dois genes) e exames familiares, o relatório será entregue num prazo máximo de 10 dias úteis; para exames que impliquem a pesquisa de variantes genéticas não previamente identificadas ou exames complexos, o relatório será entregue num prazo máximo variável em função da complexidade da análise, mas que nunca ultrapassará os 65 dias úteis.

2.2 EXAMES DE IDENTIFICAÇÃO DE VARIANTES GENÉTICAS SOMÁTICAS DO CANCRO

Este tipo de exames é realizado mediante prescrição médica, através de requisição apropriada, a qual deverá conter o nome (ou outro tipo de identificação) do dador da amostra.

Este tipo de exame é mais frequentemente realizado em material biológico da neoplasia (primária ou metástase), tanto para neoplasias sólidas como líquidas. Podem também realizar-se colheitas de sangue para análise de biópsia líquida (material tumoral circulante), não sendo necessário que sejam feitas em jejum. As amostras biológicas terão que ser enviadas pela entidade requisitante, que também se responsabilizará pela identificação e custódia das amostras até à sua entrega.

Com exceção das biópsias líquidas, e independentemente do tipo de material biológico utilizado, é fundamental que a amostra contenha no mínimo 20% de células tumorais. As biópsias líquidas não têm critério mínimo de % de células tumorais.

É muito importante identificar corretamente o suporte contendo a amostra com, pelo menos, dois elementos identificativos, incluindo o respetivo nome/número de registo do dador da amostra e outro dado como, por exemplo, a data de nascimento ou o número de documento de identificação.

2.2.1 Utilização de material biológico de arquivo

O fator chave na identificação de variantes genéticas somáticas do cancro a partir de material biológico de arquivo é a qualidade e quantidade de material biológico disponibilizado para estudo. A análise é idealmente realizada a partir de fragmento cirúrgico/biópsia congelado/a ou fixado/a em formol tamponado e incluído/a em parafina. Neste último caso deve ser enviado um bloco de parafina representativo da neoplasia (>20% de células tumorais) que vai ser utilizado para extração de DNA.

No entanto, caso não esteja disponível o fragmento cirúrgico/biópsia, esta análise também poderá ser realizada noutros tipos de material de arquivo, como por exemplo material de citologia ou lavado brônquico devidamente preservado. Neste caso, e após confirmação da presença de células tumorais pela entidade requisitante, o material restante deve ser congelado ou colocado em álcool 95%. A amostra deve chegar ao laboratório de diagnóstico genético num prazo máximo de 48 horas.

O laboratório de diagnóstico genético compromete-se a devolver os blocos de parafina à entidade requisitante sempre que a amostra não seja utilizada na totalidade.

2.2.2 Utilização de lâminas histológicas ou citológicas

Em casos excepcionais, e quando a obtenção de amostras nas condições descritas no ponto anterior não for viável, é possível realizar este tipo de exame a partir de lâminas histológicas ou citológicas com células tumorais. Nestes casos as lâminas enviadas não serão devolvidas à entidade requisitante.

2.2.3 Colheita de sangue para biópsia líquida

A obtenção de sangue (5-10 ml) poderá ser efetuada por punção venosa para tubo com EDTA. A amostra deve chegar ao laboratório de diagnóstico genético num prazo máximo de 48 horas.

Se não for possível remeter no prazo previsto as amostras ao nosso laboratório, os tubos deverão ser armazenados com refrigeração.

No caso específico das biópsias líquidas (“Cell Free DNA” – análise de DNA circulante) o sangue periférico (10 ml) deve ser colhido para tubos de PPT (Plasma Preparation Tube). Após colheita o sangue deve ser

imediatamente invertido no tudo de colheita pelo menos 10 vezes e mantido à temperatura ambiente no máximo 5h até ser processado da seguinte forma:

- Centrifugar a 1100 rcf por 10 minutos em centrífuga à temperatura ambiente;
- Preservar o tubo na vertical e congelar a -20°C até a sua extração;

Nota: O sangue nunca deve ser preservado a -20°C antes de centrifugação para separação das fases, pois o gel de separação perde essa capacidade.

2.2.4 Amostras inadequadas

São consideradas amostras inadequadas as seguintes:

- Amostras colhidas em suporte impróprio, não contemplado nos pontos 2.2.1, 2.2.2 e 2.2.3.
- Amostras não identificadas ou com identificação deficiente ou identificadas de forma não concordante com a informação constante na requisição do exame.
- Amostras em quantidade insuficiente para análise e/ou que apresentem sinais de má preservação.

2.2.5 Tempo de conclusão do relatório

Para exames realizados em amostras obtidas nas condições descritas no ponto 2.2, o relatório será entregue num prazo máximo de 10 dias úteis após a receção/colheita do material biológico.

2.3 EXAMES DE IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES INFECIOSOS EM TECIDOS HUMANOS

Este tipo de exames é realizado mediante prescrição médica, através de requisição apropriada, a qual deverá conter o nome (ou outro tipo de identificação) do dador da amostra.

Este tipo de exame é mais frequentemente realizado em material biológico de arquivo. As amostras biológicas terão que ser enviadas pela entidade requisitante, que também se responsabilizará pela identificação e custódia das amostras até à sua entrega.

É muito importante identificar corretamente o suporte contendo a amostra com, pelo menos, dois elementos identificativos incluindo o respetivo nome/número de registo do dador da amostra e outro dado como, por exemplo, a data de nascimento ou o número de documento de identificação.

2.3.1 Utilização de material biológico de arquivo

A análise é idealmente realizada a partir de fragmento cirúrgico/biópsia congelado ou fixado em formol tamponado e incluído em parafina. Neste último caso deve ser enviado um ou mais blocos de parafina que vão ser utilizados para extração de DNA.

No entanto, caso não esteja disponível fragmento cirúrgico/biópsia, esta análise também poderá ser realizada noutros tipos de material, como por exemplo material de citologia devidamente preservado. Neste caso, e após confirmação da presença de material adequado, o material restante deve ser congelado ou colocado em álcool 95%. A amostra deve chegar ao laboratório de diagnóstico genético num prazo máximo de 48 horas.

O laboratório de diagnóstico genético compromete-se a devolver os blocos de parafina à entidade requisitante sempre que a amostra não seja utilizada na totalidade.

2.3.2 Amostras inadequadas

São consideradas amostras inadequadas as seguintes:

- Amostras colhidas em suporte impróprio, não contemplado no ponto 3.1.
- Amostras não identificadas ou com identificação deficiente ou identificadas de forma não concordante com a informação constante na requisição do exame.
- Amostras em quantidade insuficiente para análise e/ou que apresentem sinais de má preservação.

2.3.3 Tempo de conclusão do relatório

O relatório será entregue num prazo máximo de 10 dias úteis após a receção/colheita do material biológico.

2.4 ENVIO DAS AMOSTRAS

A remessa de amostras deve ser efetuada por correio registado ou outro meio equivalente. As amostras poderão ainda ser entregues por mão própria pela entidade requisitante (médico ou representante de clínica/laboratório).

2.5 LISTA DE EXAMES

Área Gastreenterologia

Câncer do estômago - genotipagem de polimorfismos pró-inflamatórios

Doença de Crohn - polimorfismos R702W, G908R e 1007fs do gene CARD15/NOD2

Doença Celíaca - genotipagem HLA

Doença de Wilson - gene ATP7B

Doença de Wilson - caso familiar

Hemocromatose - gene HFE - caso index

Hemocromatose - gene HFE - caso familiar

Hemacromatose - gene HFE (H63D, C582Y, S65D)

Pesquisa de polimorfismo da IL-28B - resposta à terapêutica da Hepatite C

Fumarato Hidratase - gene FH - caso index

Fumarato Hidratase - gene FH - caso familiar

Fumarato Hidratase - gene FH - MLPA

Área Oncologia

Deteção de HPV

Deteção de HPV por PCR + Exame citológico

Tumores - pesquisa de instabilidade de microssatélites

Câncer difuso do estômago hereditário - pesquisa de mutações do gene da caderina-E - caso index

Câncer difuso do estômago hereditário - pesquisa de grandes deleções/duplicações dos genes para o gene da caderina-E - MLPA

Câncer difuso do estômago hereditário - pesquisa de mutações do gene da caderina-E - caso familiar

Doença gástrica - genotipagem dos genes CagA, VacAs e VacAm do *Helicobacter pylori*

Pesquisa de mutações do gene KRAS (codões 12, 13, 59, 61, 117 e 146) e NRAS (codões 12, 13, 59, 61, 117 e 146)

Pesquisa de grandes deleções/duplicações dos genes BRCA1 e BRCA2 - MLPA

Pesquisa de mutações dos genes BRCA 1 e 2 com MLPA - caso index

Pesquisa de mutações dos genes BRCA 1 com MLPA - caso index

Pesquisa de mutações dos genes BRCA 1 - caso familiar

Pesquisa de mutação fundadora BRCA1

Pesquisa de mutações dos genes BRCA 2 com MLPA - caso index

Pesquisa de mutações dos genes BRCA 2 - caso familiar

Pesquisa de mutações do gene BRCA 2 - inserção ALU

Pesquisa de mutações do gene KIT

Pesquisa de mutações do gene PDGFRA

Pesquisa integral de mutações do gene KIT

Pesquisa de mutações do gene RET para despiste de forma familiar de carcinoma medular da tireóide ou síndrome (MEN2) - caso index

Pesquisa de mutações do gene RET para despiste de forma familiar de carcinoma medular da tireóide ou síndrome (MEN2) - caso familiar

Síndrome de MEN1 com pesquisa do gene MEN1 e estudo por MLPA para pesquisa de grandes deleções/duplicações - caso index

Síndrome de MEN1 com pesquisa do gene MEN1 e estudo por MLPA para pesquisa de grandes deleções/duplicações - caso familiar

Feocromocitoma/Paraganglioma hereditário (genes MAX, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TMEM127 e VHL) - caso index

Feocromocitoma/Paraganglioma hereditário (genes MAX, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TMEM127 e VHL) - caso familiar

Sarcomas, PNET e Ewing - translocações cromossômicas

Neuroblastoma - amplificação do gene NMYC

Polipose juvenil - pesquisa de mutações SMAD4 e BMPR1A - caso index

Polipose juvenil - pesquisa de mutações SMAD4 e BMPR1A - caso familiar

Síndrome Peutz-Jeghers - pesquisa de mutações STK11 (LKB1) - caso index

Síndrome Peutz-Jeghers - pesquisa de mutações STK11 (LKB1) - caso familiar

Polipose adenomatosa familiar - pesquisa de mutações APC - caso index

Polipose adenomatosa familiar - pesquisa de mutações APC - caso familiar

Polipose adenomatosa familiar - pesquisa de mutações APC - MLPA

Polipose adenomatosa do cólon - pesquisa de mutações MYH - caso index

Polipose adenomatosa do cólon - pesquisa de mutações MYH - caso familiar

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MLH1 e MSH2 com MLPA - caso index

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de grandes deleções nos genes MLH1 e MSH2 - MLPA

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MLH1 - caso index

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MLH1 - caso familiar

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MSH2 - caso index

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MSH2 - caso familiar

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações PMS2 e MSH6 - caso index

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de grandes deleções nos genes PMS2 e MSH6 - MLPA

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MSH6 - caso index

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações MSH6 - caso familiar

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações PMS2 - caso index

Cancro hereditário do cólon sem polipose - pesquisa de mutações PMS2 - caso familiar

Síndrome Li-Fraumeni - pesquisa de mutações em p53 - caso index
Síndrome Li-Fraumeni - pesquisa de mutações em p53 - caso familiar

Síndrome Li-Fraumeni - MLPA

Pesquisa de mutações do gene VHL

Pesquisa de mutações do gene JAK2

Esclerose tuberosa - genes TSC1 e TSC2

Esclerose tuberosa - genes TSC1 e TSC2 - MLPA

Esclerose tuberosa - caso familiar

Beta-catenina - pesquisa de mutações

Síndrome de Gorlin ou Síndrome baso-celular nevoide - sequenciação do gene PTCH1

Área Cardio-vascular

Hipercolesterolemia familiar – LDLR, PCSK9, LDLRAP1, APOB (exão 26) - caso index

Hipercolesterolemia familiar – caso familiar

Miocardiomatia hipertrófica - pesquisa de mutações nos genes MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, ACTC1, TPM1, MYL2, MYL3, CSRP1, TCAP - caso index

Miocardiomatia hipertrófica - caso familiar

Miocardiomatia dilatada, genes sarcoméricos - LMNA/C, MYBPC3, MYH7, TNNT2, ACTC1, TPM1, CSRP3, TCAP, SGCD, PLN - caso index

Miocardiomatia dilatada, genes sarcoméricos - caso familiar

Miocardiomatia não-compactada do ventriculo esquerdo - pesquisa dos genes: LDB3, TAZ, LMNA/C, MYH7, MYBPC3, TNNT2, ACTC1, TPM1, CSRP3, TCAP, SGCD, PLN - caso index

Miocardiomatia não-compactada do ventriculo esquerdo - caso familiar

Doença de Danon – LAMP2, ligada ao cromossoma X - caso index

Doença de Danon – caso familiar

Aneurisma/dissecção da aorta - pesquisa de mutações nos genes ACTA2, MYH11 e SMAD3

Doença de Fabry - gene GLA - caso index

Doença de Fabry - gene GLA - caso familiar

Síndrome de Wolff-Parkinson-White – PRKAG2 - caso index

Síndrome de Wolff-Parkinson-White – PRKAG2 - caso familiar

Doença de Pompe – GAA, autossômica recessiva

Síndrome de Marfan - pesquisa de mutações nos genes FBN1, TGFBR1 e TGFBR2 - caso index

Síndrome de Marfan - pesquisa de mutações nos genes FBN1, TGFBR1 e TGFBR2, SMAD3, TGFB2, MYLK, CBS, COL3A1, SLC2A10

Síndrome de Marfan - pesquisa de grandes deleções e/ou ampliações - MLPA

Síndrome de Marfan - caso familiar

Síndrome de Brugada - pesquisa de mutações no gene SCN5A - caso index

Síndrome de Brugada - pesquisa de mutações no gene CACNA1C, CACNB2, GPD1L, HCN4, KCNE3, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN5A, SLMAP

Síndrome de Brugada - caso familiar

Síndrome QT-curto - pesquisa de mutações nos genes SCN5A, KCNQ1 e KCNH2 - caso index

Síndrome QT-curto - pesquisa de mutações nos genes SCN5A, KCNQ1 e KCNH2 - caso familiar

Síndrome QT-longo - pesquisa de mutações nos genes KCNQ1, KCNH2, SCN5A, ANK2, KCNE1, KCNE2 - caso index

Síndrome QT-longo - caso familiar

Displasia arritmogénica ventricular direita, autossómica dominante - pesquisa de mutações nos genes PKP2, DSP e DSG2 - caso index

Displasia arritmogénica ventricular direita, autossómica dominante - caso familiar

Displasia arritmogénica ventricular direita, autossómica recessiva - pesquisa de mutações nos genes JUP (NAXOS) e DSP (Carvajal) - caso index

Displasia arritmogénica ventricular direita, autossómica recessiva - caso familiar

Displasia arritmogénica ventricular esquerda - pesquisa de mutações nos genes PKP2, DSG2, DSP, JUP, PLN

Taquicardia ventricular catecolaminérgica polimórfica, autossómica dominante - pesquisa de mutações nos genes RyR2 e CASQ2 - caso index

Taquicardia ventricular catecolaminérgica polimórfica, autossómica dominante - caso familiar

Trombose: factor genético predisponente - inibidor do activador do plasminogénio 1 (PAI 1) - pesquisa de variante PAI1 4G

Trombose: factor genético predisponente - metilenoetrahidrofolato reductase - pesquisa das variantes MTHFR 677T e MTHFR 1298C

Trombose: factor genético predisponente - pesquisa de Factor V de Leiden

Trombose: factor genético predisponente - protrombina - pesquisa de variante PT20210A

Trombose: factores genéticos predisponentes (FV Leiden; variantes: MTHFR 677T e 1298C, PAI1 4G e PT20210A)

Hipertensão arterial pulmonar primária - BMPR2 e ACVRL1 (ALK1) - caso index

Hipertensão arterial pulmonar primária - caso familiar

Osteogénese imperfeita: pesquisa de mutações nos genes COL1A1

Síndrome de Jervel e Lange-Nielsen: pesquisa de mutações nos genes KCNQ1 e KCNE1

Área Pneumologia

Mutações EGFR - Pesquisa de mutações nos exões 18,19,20 e 21 em fragmento cirúrgico/biopsia fixado em formol tamponado e incluído em parafina

Pesquisa da translocação do gene ALK

Pesquisa da translocação do gene ROS1

Diagnóstico de deficiência proteica (α 1-antitripsina ou outras)

Deficiências Enzimáticas

Pesquisa de mutações do gene OTC - caso index

Pesquisa de mutações do gene OTC - caso familiar

Diagnóstico de caracterização molecular/quantificação da actividade enzimática de TPMT

Intolerância não congénita à lactose - mutação LCT-13910

Deficiência em 21-Hidroxilase - pesquisa de mutações - caso index

Deficiência em 21-Hidroxilase - pesquisa de mutações - casos familiares

Parálise hipercalémica periódica - SCN4A - caso index

Parálise hipercalémica periódica - SCN4A - caso familiar

Pediatria

Diagnóstico molecular de X-Frágil (S. de Martin Bell)

Diagnóstico molecular de síndrome de Prader-Willi

Diagnóstico molecular de síndrome de Angelman

Pesquisa de UBE3A no síndrome de Angelman - caso index

Pesquisa de UBE3A no síndrome de Angelman - caso familiar

Pesquisa de mutações síndrome CFC - caso index

Pesquisa de mutações síndrome Costello - pesquisa de mutações nos genes HRAS,

KRAS, MEK1, BRAF - caso index

Pesquisa de mutações síndrome LEOPARD - caso index

Pesquisa de mutações síndrome Noonan - Pesquisa de mutações nos genes PTPN11, SOS1, RAF1, KRAS, MEK1, BRAF, MEK2, HRAS, NRAS, SHOC2, CBL - caso index

Pesquisa de mutações síndrome Noonan - caso familiar

Pesquisa de mutações de BRAF

Otorrinolaringologia / Oftalmologia

Surdez congênita não sindrômica - screening inicial - GJB2, GJB6

Surdez congênita não sindrômica - screening inicial - GJB2, GJB6 com MLPA

Síndrome de Usher tipo I - caso index

Síndrome de Usher tipo II - caso index

Síndrome de Usher tipo III - caso index

Síndrome de Usher - caso familiar

Albinismo oculocutâneo - pesquisa de mutações OCA1, OCA2, OCA3 e OCA4 - caso index

Albinismo oculocutâneo - sequenciação e MLPA do gene OCA2

Albinismo oculocutâneo - caso familiar

Glaucoma congênito - sequenciação do gene CYP1B1

Endocrinologia

Diabetes Mody 1 - pesquisa de mutações no gene HNF4A

Diabetes Mody 2 - pesquisa de mutações no gene GCK

Diabetes Mody 3 - pesquisa de mutações no gene HNF1A

Diabetes Mody 4 - pesquisa de mutações no gene PDX1

Diabetes Mody 5 - pesquisa de mutações no gene HNF1

Diabetes Mody 6 - pesquisa de mutações no gene NEUROD1

Diabetes neo-natal - pesquisa de mutações nos genes KCNJ11 E ABCC8

Diabetes Mody - pesquisa de mutações nos genes HNF4A, GCK, HNF1A, HNF1B, PDX1 e NEUROD1

Síndrome de resistência à hormona tiroideia - SRHT - caso index

Síndrome de resistência à hormona tiroideia - SRHT - caso familiar

Síndrome de Birt-Hogg-Dubé - gene FLCN

Hipotireoidismo familiar isolado - gene GCM2

Pesquisa de mutações no gene da insulina

Outros

Síndrome nefrótico - NPHS1 - pesquisa de mutações - caso index

Síndrome nefrótico - NPHS2 - pesquisa de mutações - caso index

Síndrome de Kallmann

Neurofibromatose - estudo molecular NF1 com MLPA - caso index

Neurofibromatose - estudo molecular NF1 - caso familiar

Neurofibromatose - estudo molecular NF1 - MLPA

Neurofibromatose - estudo molecular NF2 - caso index

Síndrome de Gilbert

Mesotelioma e melanoma uveal hereditário - pesquisa de mutações no gene BAP1

Síndrome de Rett - pesquisa de mutação no gene CDKL5

Linfangioleiomiomatose - TSC2

Miopatia miofibrilar - genes ZASP, DES, MYOT e CRYAB - caso index

Síndrome de Beals (aracnodactilia contractural congénita) - gene FBN2 - caso index

Sequenciação do gene PTEN

Citopatia mitocondrial - estudo DNA mitocondrial completo

Deficiência da enzima dihidropirimidina desidrogenase - gene DYPD

Xantomatose cerebrotendinosa

Doença renal poliquística autossómica dominante – pesquisa de mutações dos genes PKD1 e PKD2

Pesquisa de mutações no gene EYA4

Odontomas - pesquisa de mutações no gene CNCL7

Pesquisa de mutações do gene RYR1

Cistinúria famílias - Pesquisa de mutações dos genes SLC3A1 e SLC7A9

Colestase Hepática - pesquisa de mutações do gene ABCB4

Doença granulomatosa crónica - pesquisa de mutações do gene CYBB

Doença granulomatosa crónica - pesquisa de mutações do gene CYBA

Doença granulomatosa crónica - pesquisa de mutações do gene NCF1

Doença granulomatosa crónica - pesquisa de mutações do gene NCF2

Doença granulomatosa crónica - pesquisa de mutações do gene NCF4

3. EXAMES DE PARENTESCOS E IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA

3.1 EXAMES DE INVESTIGAÇÃO DE PARENTESCO GENÉTICO/IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA/PERFIL GENÉTICO

Podem realizar-se colheitas de sangue (em tubo ou papel apropriados) ou esfregaço bucal, não sendo necessário que sejam feitas em jejum. As colheitas poderão ser realizadas ao nosso cuidado ou serem enviadas pela entidade requisitante. Para as colheitas realizadas sob nossa responsabilidade será necessário que os interessados apresentem documento de identificação válido com fotografia.

Na situação da colheita não ser efetuada no nosso laboratório, será a entidade requisitante que se responsabilizará pela identificação e custódia das amostras até à sua entrega. Todo o material e fichas de identificação serão fornecidos pelo nosso laboratório mediante solicitação. Existem dois tipos de ficha de identificação: uma corresponde aos dados de um adulto isoladamente (por exemplo, o pretense pai), e a outra corresponde à identificação de um menor e da pessoa que o identifica (a mãe, o próprio pretense pai ou o seu detentor legal). De salientar que a completa identificação dos intervenientes, nomeadamente o registo completo dos dados a partir de documento de identificação válido com fotografia, bem como a obtenção de fotografia e impressão digital no ato de colheita, é fundamental para o reconhecimento do exame a nível judicial. De igual modo é também essencial a correta remessa/entrega das amostras ao nosso laboratório, de forma a garantir a sua rastreabilidade.

Os exames podem ser solicitados por via judicial ou por qualquer médico ou advogado, através de requisição apropriada, a qual deverá conter o nome (ou outro tipo de identificação) dos intervenientes no exame.

Quanto à realização de perfis genéticos (individuais ou de marcadores de linhagens), a colheita pode ser efetuada no nosso laboratório ou pelo interessado. Todo o material, instruções e formulários são fornecidos pelo nosso laboratório mediante solicitação. A realização de perfis genéticos a menores carece de autorização por parte dos detentores do poder paternal. Este exame só terá valor judicial se a colheita for efetuada nas nossas instalações e o interessado apresentar documento de identificação válido com fotografia.

Para qualquer tipo de exame é necessária a assinatura pelos interessados de um documento de declaração de consentimento informado.

3.1.1 Colheita de sangue

A obtenção de sangue poderá ser efetuada por punção venosa para tubo com EDTA ou por picada de dedo com lanceta e colocação do sangue em papel apropriado (tipo FTA) para preservação de manchas de sangue. Este último método é o mais utilizado devido à sua rapidez, facilidade técnica e envio, e melhor aceitação por parte do interveniente.

A obtenção de manchas de sangue em papel apropriado deve ocupar os círculos assinalados no papel, não sendo necessário preencher a totalidade do espaço designado para as manchas. É muito importante identificar corretamente o suporte contendo a amostra com, pelo menos, dois elementos identificativos incluindo o respetivo nome/número de registo do dador da amostra e outro dado como, por exemplo, a data de nascimento ou o número de documento de identificação.

Após a colheita, as amostras colhidas em FTA deverão secar à temperatura ambiente durante cerca de 24 horas, antes de serem remetidas ao nosso laboratório. Se não for possível remeter de imediato as amostras ao nosso laboratório, estas deverão ser mantidas em local fresco e seco. Nestas condições, o prazo de conservação estende-se por vários anos.

Se o sangue for colhido por via venosa para tubo com EDTA, este deverá ser mantido refrigerado, sem congelar, no caso de não ser possível remeter de imediato a amostra ao nosso laboratório. Nestas condições, o prazo de conservação é de uma semana.

3.1.2 Colheita de células da mucosa bucal

A colheita de células por esfregaço bucal é efetuada com escovas apropriadas para tubos de 1,5 ml contendo álcool a 96°.

Antes de efetuar a colheita é necessário colocar cerca de 1ml de álcool a 96° nos tubos de 1,5 ml.

É muito importante identificar corretamente o suporte contendo a amostra com, pelo menos, dois elementos identificativos incluindo o respetivo nome/número de registo do dador da amostra e outro dado como, por exemplo, a data de nascimento ou o número de documento de identificação.

A colheita de células da mucosa bucal é feita com as escovas fornecidas, raspando levemente a área interior das bochechas durante cerca de 30 segundos. De seguida, coloca-se a escova em contato com o álcool no tubo, roda-se a escova dentro do tubo observando-se a queda e deposição de material celular no fundo. Retira-se a escova (lixo) e fecha-se muito bem o tubo embrulhando-o em parafilme para garantir que não haverá perdas durante o transporte para o laboratório.

São necessárias 3 colheitas por pessoa, ou seja, 3 esfregaços bucais distintos.

É necessário ter em atenção o correto manuseamento dos tubos e escovas de forma a evitar a contaminação das amostras por outro DNA humano.

Se não for possível remeter de imediato as amostras ao nosso laboratório, os tubos deverão ser congelados, não excedendo o prazo de 30 dias.

3.1.3 Amostras inadequadas

- Amostras colhidas em suporte impróprio, não contemplado nos pontos 3.1.1 e 3.1.2.
- Amostras não identificadas ou com identificação deficiente, ou identificadas de forma incomparável com a prescrição do exame.
- Amostras em quantidade insuficiente para análise e/ou que apresentem sinais de má preservação.

3.1.4 Tempo de conclusão do relatório

Um relatório de investigação de paternidade (trio – pretenso pai, mãe e filho ou duo – pretenso pai e filho) será remetido antes do termo de 10 dias úteis após a receção/colheita de amostras em boas condições.

Um relatório de outro tipo de investigação de parentesco ou de um perfil genético poderá ser mais moroso dependendo do tipo e número de marcadores genéticos a analisar. A remessa não deverá exceder os 20 dias úteis após a receção/colheita do material biológico.

3.2 EXAMES DE INVESTIGAÇÃO DE PARENTESCO GENÉTICO/IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA /PERFIL GENÉTICO A PARTIR DE MATERIAL BIOLÓGICO QUE NÃO SANGUE NEM ESFREGAÇO BUCAL

Por várias razões, pode ser necessário comparar o perfil genético de uma amostra com o de um possível dador. Por exemplo, na suspeita de troca de amostras de biópsias, é fundamental que o diagnóstico seja emitido à pessoa correta. Por vezes, também na área das investigações de paternidade poderão surgir situações em que o único material biológico existente do suposto pai, já falecido ou desaparecido, tem como origem uma biópsia, uma peça de roupa manchada ou até cabelos.

Teoricamente é possível a obtenção de perfis genéticos a partir de qualquer tipo de material biológico, nomeadamente cabelos, tecidos e fluidos biológicos. No entanto, o sucesso para a obtenção de um perfil genético depende, fundamentalmente, do tipo e estado de conservação da amostra biológica inicial, bem como da forma como foi colhida e preservada. Como tal, qualquer pedido de análise a um vestígio biológico (isolado ou em suporte físico) requer observação e avaliação prévia pelos peritos do laboratório, no sentido de aferir qual a estratégia técnica mais apropriada para cada caso.

Após a observação do material a analisar, tanto as expectativas de sucesso da análise bem como os pormenores sobre os procedimentos a seguir, são comunicados à entidade requisitante que notificará a decisão de prosseguir ou não com a análise.

3.2.1 Amostras inadequadas

Amostras que, após observação qualitativa e quantitativa, apresentem uma baixa probabilidade de sucesso. A apreciação final é efetuada através de uma tentativa de extração de DNA e posterior avaliação dos resultados obtidos após PCR.

3.2.2 Tempo de conclusão do relatório

Dado que os procedimentos inerentes à análise de diferentes tipos de material biológico são distintos conforme o caso, um relatório de investigação de parentesco, de identidade ou de um perfil genético de material biológico que não sangue nem esfregaço bucal, será remetido até 30 dias úteis após a receção/colheita do material biológico.

3.3 ENVIO E GUARDA DAS AMOSTRAS

A remessa de amostras colhidas fora do Instituto deve ser efetuada por correio registado ou outro meio equivalente. As amostras poderão ainda ser entregues por mão própria pela entidade requisitante (médico ou representante de clínica/laboratório). No caso de a entrega ser efetuada pelo interveniente no exame, este terá de assinar um auto de entrega, salientando-se que neste caso o valor judicial do exame ficará comprometido. No caso de amostras para investigações de parentesco, o envio/entrega deverá ser efetuado pela entidade requisitante, não sendo aceites amostras entregues pelas pessoas diretamente envolvidas nos exames.

As amostras primárias (no caso de sobrar material biológico) e DNAs são arquivados durante 10 anos após expedição do relatório final, estando disponíveis para re-análise se assim for solicitado.

3.4 LISTA DE EXAMES

Testes parentesco e perfis genéticos em humanos - Forense

Testes de paternidade/maternidade

Testes de paternidade/maternidade (valor a acrescentar por pessoa extra)

Investigação de zigotia, por pessoa

Outras investigações de parentesco

Identificação (Limite/Complexa vs Referência)

Identificação (Referência vs Referência)

Perfil genético individual

Caracterização de marcadores de linhagem feminina (mtDNA)

Caracterização de marcadores de linhagem masculina (Y-STRs)

Extracção de DNA e PCR, sem colheita, sem relatório

Perfil genético de material biológico (que não sangue nem esfregaço bucal)

Parecer pericial sem revisão de resultados

Parecer pericial com revisão de resultados

Parecer pericial envolvendo parentescos complexos

Perfis genéticos em humanos - Não-Forense

I-Characterização genética individual (marcadores autossómicos)

II-Characterização de marcadores de linhagem materna (região controle completa do DNA mitocondrial)

III-Characterização de marcadores de linhagem paterna (20 Y-STRs)

IV-Characterização genética individual do cromossoma X (15 X-STRs)

V-Characterização genética individual de SNPs autossómicos (35 Indels autossómicos)

VI-Characterização de marcadores de linhagem paterna (Y-SNPs)

Pacote I+II

Pacote I+III

Pacote I+V

Pacote II+III

Pacote II+III+VI

Pacote III+VI

Pacote I+II+V

Pacote I+II+IV+V

Pacote I+II+III+IV+V+VI

Outros pacotes

Testes paternidade/maternidade e perfis genéticos em cães

Cães - Teste de parentesco simples (pai/mãe/filho ou pai/filho ou mãe/filho)

Cães - Perfil genético individual (9 STRs autossómicos)

Identificação de espécies