



DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR



Pediatria



DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR

Pediatria

①





DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR

Pediatria

② Todos nascem com um potencial genético de crescimento e desenvolvimento, que poderá ou não ser atingido, dependendo das condições de vida a que esteja submetido desde a gestação até a idade adulta. Assim, o crescimento depende de fatores intrínsecos da criança (genéticos, metabólicos, malformações) e ambientais (alimentação, ocorrência de doenças, cuidados gerais e de higiene, condições de habitação e saneamento básico e acesso aos serviços de saúde).

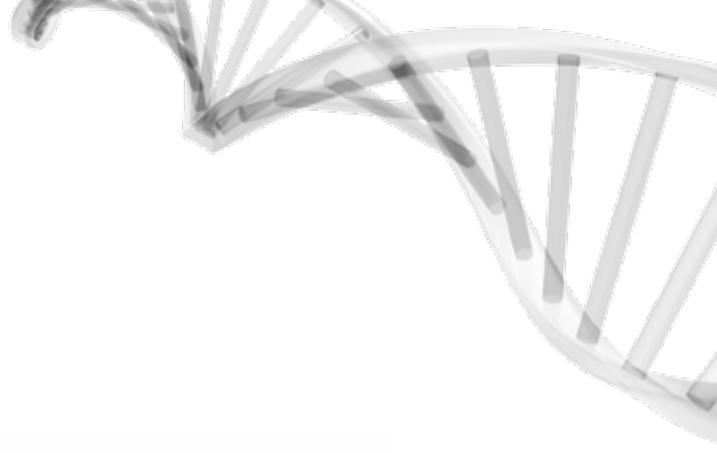
A realização de uma boa assistência pré-natal, ao parto e aos primeiros anos de vida são condições fundamentais para que o crescimento infantil se processe de forma adequada. Isso tem sido possível e cada vez de forma mais efetiva, graças aos avanços na área da genética, especialmente no campo da pediatria.

A identificação de genes capazes de modular a fisiologia do corpo humano e o entendimento de como estes genes interagem com o ambiente na formação de

traços normais e patológicos têm contribuído imensamente para o aprimoramento do diagnóstico molecular dos principais distúrbios pediátricos.

A Genética Molecular do Hermes Pardini está em constante atualização para desempenhar os testes genéticos mais modernos, seguros e primordialmente com respaldo técnico-científico no que se refere ao diagnóstico de doenças pediátricas. Os testes permitem desde a identificação do sexo do feto no sangue materno já nas primeiras semanas de gravidez até a identificação de anomalias cromossômicas e moleculares, que resultam em distúrbios neurológicos, metabólicos, oncológicos, reprodutivos e hematológicos que possam interferir no adequado crescimento infantil. Visando a garantia de um diagnóstico e tratamento adequados, nossos exames oferecem apoio, segurança e confiabilidade diagnóstica à classe médica e aos pacientes e seus familiares.

Para informações adicionais e atualizações acerca do menu completo de exames acesse o link www.hermespardini.com.br/helpdexames



Acondroplasia - Estudo genético	6	Distrofia Muscular de Becker e Duchenne - Teste Portador	12
Alfa talassemia - Estudo molecular	6	Distrofia Muscular Oculofaríngea	12
Alfa-1-anti-tripsina - Diagnóstico da mutação	6	Doença de Gaucher - Diagnóstico molecular	13
Ataxia de Friedreich	7	Doença de Kennedy - Diagnóstico molecular	13
Ataxias - Painel	7	Doença de Tay-Sachs infantil - Estudo genético	14
Atrofia muscular espinhal SMA	7	DQA0501 e DQB0201 - Estudo molecular	14
Charcot-Marie-Tooth IA - Diagnóstico molecular de duplicações no gene PMP22	8	Fibrose Cística - Estudo genético (3 MUTAÇÕES)	15
Charcot-Marie-Tooth IA - Sequenciamento do gene PMP22	8	Fibrose Cística - Mutação Delta F508	15
COL1A1 - Sequenciamento gênico	9	Fibrose Cística - 32 mutações e 3 polimorfismos	16
Cromossomo Y - Pesquisa para Síndrome de Turner	9	Fibrose Cística - 32 mutações, 3 polimorfismos e IVS poli T	17
Distrofia facioescapuloumeral - Southern Blot	10	G6PD - Mutação 202 (G/A)	17
Distrofia Miotônica de Steiner - estudo Molecular	10	Gene FLT3 - Prognóstico molecular de LMA	18
Distrofia Muscular Congênita - Gene LAMA2	11	Hemocromatose - Diagnóstico molecular da mutação S65C	18
Distrofia Muscular de Becker e Duchenne - Diagnóstico molecular	11	Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y e H63D	19



Índice

Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y, H63De S65C	19	RET- Sequenciamento do Protooncogene RET: exons 10, 11, 13, 14, 15 e 16 individualizados	27
Hemocromatose tipo III - Mutação Y250X no gene TFR2	20	Sexagem fetal no sangue materno	27
Hiperplasia adrenal congênita - Estudo molecular da 21 hidroxilase	20	Sexo genético	28
MCAD - Mutação	21	Síndromes de Angelman e Prader-Willi - Estudo molecular	28
MELAS - Miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidose láctica e episódios tipo AVC	22	Síndrome de Gilbert - Diagnóstico molecular	29
MERRF - Epilepsia Mioclônica com fibras vermelhas rasgadas	22	Síndrome de Silver-Russel - Diagnóstico molecular	29
Miopatia mitocondrial tipo Leighs	23	Síndrome de Willians - Diagnóstico molecular	30
Neurofibromatose tipo 1 (Neurofibromatose de Von Recklinghausen)	23	Síndromes genéticas em descendentes judaicos - Estudo molecular	30
Neurofibromatose tipo 2	24	Síndromes genéticas mais frequentes - Estudo molecular	30
Neuropatia Hereditária Sensível à Compressão - HNPP	24	SRY - Estudo por PCR	31
Surdez congênita - Mutação 35delG	25	Translocação BCR-ABL	31
Surdez congênita - Mutação 167T	25	X Frágil - Pesquisa molecular do cromossomo	32
Diagnóstico molecular para Surdez congênita	25		
RET- Sequenciamento do Protooncogene RET: 6 exons 10, 11, 13, 14, 15 e 16	26		

Acondroplasia - Estudo genético

A acondroplasia é a forma mais comum de displasia. Esta alteração é responsável pelo fenótipo que caracteriza o anão. Realizamos o estudo das duas mutações que causam a doença: G1138A e G1138C.

MÉTODO	PCR - RFLP
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis

Alfa talassemia - Estudo molecular

A alfa talassemia constitui um grupo de doenças hereditárias, causadas pela deficiência de síntese de cadeias alfa da hemoglobina. Existem quatro genes da alfa globina, localizados no par de cromossomos 16 (região 16p13.3) e os fenótipos da alfa talassemia são determinados pela deleção de 1, 2, 3 ou 4 desses genes, ou por pequenas mutações pontuais. De acordo com o número de genes deficientes, os fenótipos observados são: portador silencioso, traço alfa talassêmico, doença da hemoglobina H e hidropsia fetal por hemoglobina Bart's, respectivamente. A alfa talassemia α^{3-7} é a forma mais comum mundialmente, seguida de α^{4-2} , α^{--MED} , α^{20-5} , α^{--SEA} .

O alto grau de miscigenação na formação da população brasileira produziu elevadas frequências de hemoglobinopatias no país. A alfa talassemia, principalmente α^{3-7} , é a alteração de hemoglobina mais comum na população brasileira, atingindo 20 a 25% da população afro-descendente. Em indivíduos com microcitose e hipocromia, a frequência é de cerca de 50%, conforme estudos brasileiros.

O teste molecular é útil para confirmar o diagnóstico, principalmente em pacientes com microcitose e hipocromia sem anemia, no aconselhamento genético e em estudos populacionais.

MÉTODO	PCR Alelo específico
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	<ul style="list-style-type: none">• Até 2 dias à temperatura ambiente.• Até 5 dias refrigerado entre 2° a 8°C.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	25 dias úteis

Alfa-1-anti-tripsina - Diagnóstico da mutação

Este estudo detecta os alelos mutantes S e Z que levam a deficiência da alfa-1 antitripsina, um dos principais fatores causadores de enfisema e outras doenças pulmonares.

MÉTODO	PCR - RFLP
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA.
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	21 dias úteis

Ataxia de Friedreich

A Ataxia de Friedreich (FRDA) é um distúrbio neurodegenerativo autossômico recessivo com incidência de 1 em cada 50.000 indivíduos. A doença se manifesta mais frequentemente na puberdade, e na quase totalidade dos casos antes dos 25 anos de idade, de forma insidiosa. FRDA é caracterizada por perda dos reflexos tendíneos, fraqueza nos membros inferiores, perda da propriocepção, disartria, ataxia, cardiomiopatia e diabetes (em alguns casos).

A mutação responsável pela Ataxia de Friedreich é caracterizada por uma expansão na repetição de trinucleotídeos GAA situada no gene X25 do cromossomo 9. Os indivíduos normais apresentam de 7 a 34 repetições enquanto que os afetados têm 66 ou mais delas.

Ataxias - Painel

Neste painel são estudadas a Ataxia de Friedreich, que tem etiologia autossômica recessiva e as ataxias espinocerebelares SCA1, SCA2, SCA3, SCA10, que são autossômicas dominantes. A mutação no gene ocorre por expansão na sequência de trinucleotídeos e o exame consiste na análise do tamanho dessas repetições. O estudo de cada doença isoladamente também pode ser realizado.

Atrofia muscular espinhal SMA

As atrofas musculares são um grupo heterogêneo de enfermidades neuromusculares, classificadas em SMAI (Síndrome de Werdnig-Hoffmann), SMAII e SMAIII (Síndrome de Kugelberg-Welander), conforme a gravidade das manifestações clínicas. Sua frequência entre nascidos e de 1:10000 e de 1:40 a 1:60 entre portadores e apresenta herança autossômica recessiva.

O gene SMN existe como dois homólogos, sendo um gene telomérico (SMN1) e um gene centromérico (SMN2), por cromossomo em um indivíduo normal. SMN1 e SMN2 se diferenciam somente por 5pb entre os exons 7 e 8. A maioria dos casos de SMAI resultam de uma deleção homocigótica do gene SMN1, enquanto SMAII e SMAIII derivam de conversões de SMN1 para SMN2. SMAII ocorre quando a conversão de SMN1 para SMN2 esta presente em apenas um alelo (deleção em

MÉTODO

PCR-Fluorescente e genotipagem em sequenciador automático

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

MÉTODO

PCR STR Fluorescente e genotipagem em sequenciador automático

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

hemizigose), enquanto na SMAIII a conversão de SMN1 para SMN2 ocorre nos dois alelos (deleção em homocigose).

MÉTODO

Reação em Cadeia de Polimerase fluorescente do gene SMN1

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

40 dias úteis

7

Charcot-Marie-Tooth IA - Diagnóstico molecular de duplicações no gene PMP22

A doença Charcot-Marie-Tooth é uma doença neurológica mendeliana autossômica dominante, com uma frequência de 1 em 2500. Caracteriza-se por fraqueza e atrofia muscular, alterações sensoriais e motoras, deformidades nos pés; cuja intensidade sofre variação individual, mesmo entre membros de uma mesma família. Cerca de 75% dos casos de Charcot-Marie-Tooth são causados por uma duplicação na região do gene PMP22 da proteína mielínica periférica, proveniente de crossing over desigual no cromossomo 17p11.2-p12. Esta técnica consegue diagnosticar cerca de 78% dos casos, por meio do estudo de marcadores distribuídos no gene PMP.

MÉTODO

PCR - Fluorescente e Genotipagem através do sequenciador automático

CONDIÇÃO

- Sangue Total em EDTA
 - Coletar material dos pais do paciente.
- No caso de não encaminhamento das amostras dos pais do paciente, é obrigatório o envio de termo de anuência do paciente ou laboratório conveniado informando estar ciente de que pode não ser possível concluir o resultado e que neste caso, o valor pago pelo exame não será devolvido
-

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Charcot-Marie-Tooth IA - Sequenciamento do gene PMP22

8

Charcot-Marie-Tooth tipo 1 é uma neuropatia periférica desmielinizante, de progressão lenta, com início dos sintomas entre 5 e 25 anos de idade e herança autossômica dominante. A prevalência da doença é de 1 em 2500 para a população em geral. Caracteriza-se por fraqueza e atrofia musculares distais, alterações sensoriais e motoras, além de deformidades nos pés. A expressividade é variável, mesmo entre membros de uma mesma família. Cerca de 75% dos casos de Charcot-Marie-Tooth são causados por uma duplicação no gene PMP22 que codifica a proteína mielínica periférica 22. Esta duplicação é proveniente de *crossing over* desigual na região p11.2-p12 do cromossomo 17.

A Neuropatia Hereditária Sensível à Compressão (HNPP), também conhecida como “neuropatia tomaculous”, é uma forma frequente de neuropatia periférica autossômica dominante. Em 70% dos casos, é causada por uma deleção de 1.4Mb no gene PMP22, proveniente de *crossing over* desigual no cromossomo 17p11.2-p12. Normalmente se caracteriza por paralisias nervosas

sensoriais e motoras, com episódios reversíveis e recorrentes, precipitados por compressão ou trauma.

Esta técnica é indicada nos casos inconclusivos ou negativos para o exame molecular para Doença de Charcot-Marie-Tooth ou Neuropatia hereditária sensível a compressão, cujos pacientes têm manifestações clínicas sugestivas destes síndromes.

MÉTODO

PCR sequenciamento

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

COL1A1 - Sequenciamento gênico

A osteogênese imperfeita está associada a um grupo de enfermidades caracterizadas pela aparição de fraturas com mínimo ou ausente trauma, dentinogênese imperfeita e, no adulto, perda de audição. As características clínicas têm um amplo intervalo que vai desde a letalidade perinatal a indivíduos com severas deformidades nos ossos, incapacidade de movimentos e baixa estatura a indivíduos praticamente assintomáticos com uma predisposição média às fraturas e estatura normal. As fraturas aparecem em todos os ossos, mas são mais frequentes nas extremidades. A dentinogênese imperfeita caracteriza-se por apresentar dentes negros ou marrons e de fácil ruptura.

Cromossomo Y - Pesquisa para Síndrome de Turner

A Síndrome de Turner é uma doença genética que acomete 1 em cada 2.000 nascidos vivos do sexo feminino. As manifestações clínicas mais frequentes são: baixa estatura, disgenesia gonadal, malformação renal e anormalidades cardiovasculares. Esta síndrome é determinada pela monossomia do cromossomo X (45,X), presente em 50% a 60% dos casos, ao passo que o restante dos pacientes tem grande variabilidade de anomalias do cromossomo X, incluindo mosaicismos.

Dos pacientes estudados por citogenética 6% apresentam o cromossomo Y ou resíduos deste, sendo que em outros 3% só se encontra este cromossomo por meio da técnica de PCR. A presença deste cromossomo, ou parte dele, tem forte associação com o risco (> 35%) de desenvolvimento do gonadoblastoma que corresponde a um tumor do ovário de células indiferenciadas. Isto justifica a necessidade de identificar os pacientes de risco a fim de estabelecer medidas preventivas, como gonadectomia (retirada dos ovários em fita).

Os recentes estudos na área de biologia molecular possibilitaram o desenvolvimento de técnicas bastante sensíveis para detectar o cromossomo Y no DNA destes pacientes. Usando a técnica de PCR (Reação em Cadeia da

MÉTODO	PCR Sequenciamento
CONDIÇÃO	5,0 mL de sangue (EDTA).
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis após às 18:30h.

Polimerase) e sondas específicas, é possível identificar a presença do gene determinante do sexo no cromossomo Y (SRY), o gene da proteína específica testicular (TSPY) e outras sequências gênicas presentes no cromossomo Y como DYZ1. A utilização concomitante destas três sondas aumenta a sensibilidade do método e garante a detecção, mesmo quando existem baixos níveis de mosaicismos.

9

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA ou swab bucal
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Sangue: Até 2 dias em temperatura ambiente ou até 7 dias refrigerado entre 2° e 8°C. Swab: Até 5 dias em temperatura ambiente
TEMPO DE LIBERAÇÃO	15 dias úteis

Distrofia facioescapuloumeral - Southern Blot

A distrofia facioescapuloumeral se apresenta normalmente antes dos 20 anos com debilidade nos músculos faciais e estabilização da escápula ou dos dorsiflexores do pé. A severidade é muito variável. A debilidade aparece lenta e progressivamente e em 20% dos afetados eventualmente requerem cadeira de rodas. O diagnóstico de FSHD se realiza analisando a deleção de 3,3 Kb no gene D4Z4 presente em 95% dos casos de FSHD.

MÉTODO	Southern Blot
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Até 5 dias refrigerado entre 2° e 8° C.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	65 dias úteis

Distrofia Miotônica de Steiner - estudo Molecular

A Distrofia Miotônica tipo 1 (DM1) é um transtorno multisistêmico que afeta o músculo esquelético liso incluindo o olho, coração, sistema endócrino e sistema nervoso central. Os sintomas clínicos que vão desde leves a severos, tem sido classificados em 3 fenótipos: leve, clássico e congênito. Ao menos 98% dos casos DM1 apresentam uma repetição e expansão demonstrável de trinucleotídeos (CTG). Recomenda-se para a confirmação do diagnóstico do paciente com ou sem antecedentes familiares, de análises por meio de DNA do gene DMPK. As provas pré-sintomáticas de pacientes com antecedentes são possíveis, como no diagnóstico pré-natal de fetos com familiares afetados. Recomenda-se aconselhamento genético anteriormente às provas de casos pré-sintomáticos. A incidência é de 1/8000. O gene DMPK esta localizado no cromossomo 19q13 e apresenta uma repetição de trinucleotídeo CTG na extremidade

3'. A Distrofia Miotônica de Steiner, uma doença de expansão (repetições CTG), apresenta padrão de herança autossômico dominante, com penetrância completa e expressividade variável.

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	40 dias úteis

10



Distrofia Muscular Congênita - Gene LAMA2

O termo Distrofia Muscular Congênita (CMD) se refere a um grupo de transtornos hereditários nos quais a debilidade muscular está presente desde o nascimento. As crianças afetadas apresentam baixo tônus muscular e contraturas. A debilidade muscular tende a ser estável no tempo, mas as complicações da distrofia podem ser mais graves com o tempo. aproximadamente 50% das CMD's são causadas por uma deficiência completa de uma proteína na matriz extracelular, a merosina. Esta deficiência está causada por mutações no gene LAMA2 que codifica para merosina, também denominada lamina alfa-2. O gene LAMA2 tem 64 éxons e as mutações se distribuem ao longo de toda sequência codificante de 9,5 kb. Não tem-se observado mutações mais frequentes neste gene.

MÉTODO

Sequenciamento do Gene Lama2

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

50 dias úteis

Distrofia Muscular de Becker e Duchenne - Diagnóstico molecular

As Distrofias de Becker/Duchenne são causadas por uma ou várias deleções no gene da distrofina.

Este exame é realizado por MLPA (*Multiplex Ligation dependent Probe Amplification*) para a detecção/duplicações nos 79 exons do gene da distrofina e do splicing alternativo do exon 1-DP427c. Esta técnica semiquantitativa permite a identificação tanto de portadores como de afetados pelos exons envolvidos.

MÉTODO

PCR Multiplex

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA.
Realizado somente em pacientes do SEXO MASCULINO.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

33 dias úteis

11





Distrofia Muscular de Becker e Duchenne - Teste Portador

As distrofias musculares de Becker e Duchenne são doenças musculares progressivas, de herança recessiva ligada ao X, causadas por deleções no gene da distrofina, localizado em Xp21. Em homens, a incidência da distrofia de Duchenne é de 1:3500 e da distrofia de Becker de 1:30000. A frequência de portadores do sexo feminino destas distrofias é de 1:1500. Sabe-se que 70 a 80% dos casos de distrofias musculares de Becker e Duchenne devem-se a deleções de 1 ou mais exons no gene da distrofina. A análise molecular do gene da distrofina é recomendada para a confirmação do diagnóstico, no lugar de métodos invasivos. O teste molecular para análise de portadores do sexo feminino é indicado para o aconselhamento genético em famílias nas quais a presença de deleções tem sido relatadas.

MÉTODO

PCR multiplex

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA
Este teste é recomendado para indivíduos do sexo feminino

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 5 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

35 dias úteis

Distrofia Muscular Oculofaríngea

A Distrofia Muscular Oculofaríngea é caracterizada por desenvolvimento tardio, usualmente após 45 anos, e presença de história familiar com envolvimento de 2 ou mais gerações. A forma clínica se apresenta com pálpebras caídas, dificuldades para engolir e história familiar com implicação de duas ou mais gerações. O diagnóstico molecular está baseado na análise do número de repetições do trio GCG no gene PABPN1, onde os indivíduos afetados apresentam mais de 6 repetições.

MÉTODO

Sequenciamento

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

Doença de Gaucher - Diagnóstico molecular

A Doença de Gaucher é uma doença de depósito lisossomal, em que, devido à deficiência da enzima beta-glicosidase ocorre acúmulo de glicosilceramida nos macrófagos, principalmente do baço, fígado, medula óssea e pulmões. Existe um amplo espectro clínico que é dividido em três tipos principais (1, 2 e 3), mas pode variar desde um quadro letal perinatal até formas assintomáticas. O diagnóstico é feito pela identificação da deficiência de atividade enzimática em leucócitos ou outras células nucleadas.

A etiologia é autossômica recessiva e resulta de mutação no gene da glicosidase (GBA), localizado no cromossomo 1. Analisamos as mutações mais comuns (N370S, L444P, R463C) que causam a doença de Gaucher.

Doença de Kennedy - Diagnóstico molecular

É uma doença neuromuscular progressiva em que a degeneração de neurônios motores inferiores resulta em fraqueza muscular proximal, atrofia muscular e fasciculações, em indivíduos do sexo masculino. Os acometidos apresentam também ginecomastia, atrofia testicular e oligospermia. Os sintomas iniciam-se entre 20 e 50 anos e a herança é recessiva ligada ao X.

A causa é uma mutação no exon 1 do gene receptor de androgênio, localizado no braço longo do cromossomo X. Essa mutação ocorre por expansão na repetição da sequência de trinucleotídeos CAG e que pode ser pesquisada por meio de estudo molecular.

MÉTODO

PCR (Metodologia *in house*)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

MÉTODO

PCR-Fluorescente e Genotipagem através do sequenciador automático

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

13



Doença de Tay-Sachs infantil - Estudo genético

Doença de armazenamento intralisossomal de glicoesfingolípides (gangliosídeo GM2), por deficiência da enzima hexosaminidase A. É uma doença neurodegenerativa, com início dos sintomas entre 3 e 6 meses de vida e que evolui com fraqueza muscular progressiva, perda de habilidades, surdez, cegueira e convulsões. Em populações de origem judaica a incidência da doença é aumentada, atingindo cerca de 1:3.600 nascimentos e a taxa de portadores é de 1:36.

A herança é autossômica recessiva e ocorre por mutação no gene HEXA, localizado no braço longo do cromossomo 15. Essa mutação pode ser identificada por estudo molecular. O exame é indicado para confirmação do diagnóstico em indivíduos sintomáticos com atividade enzimática limitrofe, para triar portadores em populações de alto risco ou em pessoas com história familiar de Tay-Sachs, com o objetivo de realizar aconselhamento genético.

O Departamento de Genética Humana do Hermes Pardini realiza o estudo das mutações no exon 11 e no intron 12 pela técnica de PCR/RFLP. Estas mutações são as responsáveis pela grande maioria dos casos da doença de Tay-Sachs.

MÉTODO

PCR RFLP para as mutações: Ins TATC1278 no exon 11 e IVS12 + 1 G>C no intron 12 do gene da Hexosaminidase A - (Metodologia *in house*)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

DQA0501 e DQB0201 - Estudo molecular

14

A presença dos alelos DQA*0501 e DQB*0201 formam o haplótipo conhecido como DQ2, presente em mais de 90% dos indivíduos portadores de doença celíaca.

MÉTODO

PCR alelo específico

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

25 dias úteis



Fibrose Cística - Estudo genético (3 MUTAÇÕES)

A Fibrose Cística (FC) é a doença autossômica recessiva mais comum na população caucasiana e aparece em aproximadamente 1:3.200 nascimentos. Ocorre devido a mutações no gene CFTR, localizado no cromossomo 7. A Fibrose Cística (FC) é uma doença multissistêmica que afeta principalmente o trato respiratório e o pâncreas exócrino, levando a um quadro de pneumopatia crônica associado, frequentemente, a insuficiência pancreática com má absorção intestinal. Outra manifestação encontrada é a agenesia bilateral de vasos deferentes que resulta em azoospermia.

O estudo molecular é indicado para confirmação do diagnóstico em pessoas com manifestações clínicas de FC, identificação de portadores de mutação no gene da FC, diagnóstico pré-natal e em doadores de esperma e óvulos. Neste estudo é realizada a análise dos exons que contêm as mutações de maior prevalência no Brasil: Delta F508, R553X e N1303K.

Fibrose Cística - Mutação Delta F508

A Fibrose Cística (FC) é uma doença multissistêmica que afeta principalmente o trato respiratório e o pâncreas exócrino, levando a um quadro de pneumopatia crônica associado, frequentemente, a insuficiência pancreática com má absorção intestinal. Outra manifestação encontrada é a agenesia bilateral de vasos deferentes. Ocorre devido a mutações no gene CFTR e a etiologia é autossômica recessiva.

O estudo molecular é indicado para confirmação do diagnóstico em pessoas com manifestações clínicas de FC, identificação de portadores de defeito no gene da FC, diagnóstico pré-natal e em doadores de esperma e óvulos. Neste estudo é realizada análise da mutação de maior prevalência no Brasil: Delta F508.

LOCALIZAÇÃO: 7q31

HEREDITARIEDADE: autossômica recessiva



MÉTODO

PCR alelo - específico fluorescente para as mutações pontuais Delta F508, R553X, e N1303K

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

15

MÉTODO

PCR alelo-específico fluorescente

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Fibrose Cística - 32 mutações e 3 polimorfismos

A Fibrose Cística afeta o epitélio do sistema respiratório, pâncreas, intestino, testículos, sistema hepatobiliar, glândulas exócrinas resultando em uma enfermidade multi-sistêmica. A maior causa de morte em enfermos de Fibrose Cística é relacionada a doenças pulmonares e, dos indivíduos afetados, a maioria dos casos apresenta uma mutação no gene CFTR. Especificamente, nosso painel de 32 mutações detecta mais de 90% de mutações na população europeia (O índice de detecção varia em outras raças). Agora, além disso, completamos o estudo com a sequenciação completa do gene CFTR. A análise direta de DNA do gene da Fibrose Cística é recomendada para a confirmação do diagnóstico de um paciente com ou sem antecedentes familiares. O diagnóstico pré-natal é possível para famílias com casos confirmados de fibrose, ou quando há suspeita de que o feto esteja afetado (por exemplo: intestino ecogênico). Além disso, o Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia (ACOG) recomenda aos portadores de FQ um *screening* com todos os casais quando ao menos um deles seja caucasiano. É possível realizar-se para pessoas de outras raças.

O ensaio de Fibrose Cística mediante PCR mais OLA analisa os alelos mutantes e normais de 30 loci do gene CFTR a partir do DNA genômico. A técnica apresenta

100% de sensibilidade e 100% de especificidade. A detecção se baseia no tamanho e na fluorescência do fragmento amplificado e permite a análise de 32 mutações (sendo 25 delas mais frequentes em todas as raças) e mais 3 polimorfismos (I506V, I507V e F508C).

MÉTODO

PCR Multiplex

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

25 dias úteis



Fibrose Cística - 32 mutações, 3 polimorfismos e IVS poli T

O ensaio de Fibrose Cística mediante PCR mais OLA analisa os alelos mutantes e normais de 30 loci do gene CFTR a partir do DNA genômico. A técnica apresenta 100% de sensibilidade e 100% de especificidade. A detecção se baseia no tamanho e na fluorescência do fragmento amplificado e permite a análise de 32 mutações (sendo 25 delas mais frequentes em todas as raças), 3 polimorfismos (I506V, I507V e F508C) e as politiminas.

As mutações estudadas cobrem 65% da frequência das mutações detectadas no gene CFTR na área mediterrânea. O resultado não exclui a presença de outras mutações menos frequentes (<1%) no gene CFTR.

MUTAÇÕES ESTUDADAS

S549N, S549R, R533X, G551D, V520F, I507del, F508del, 3876delA, 1717-1G->A, G542X, R560T, 3120+1G->A, A455E, R117H, 394delTT, 2183AA->G, 2184delA, 2789+5G->A, 1898+1G->A, 621+1G->T, 711+1G->T, G85E, R347P, R347H, I148T, W1282X, R334W, 1078delT, 3849+10KbC->T, R1162X, N1303K, 3659delC, 3905insT.

A mutação em heterozigose das politiminas (poliT) está relacionada a ausência de vasos deferentes (CAVD). Existem três polimorfismos predominantes no intron 8 do gene CFTR:

- Variante 7T: Genes transcritos normais.
- Variante 9T: Genes transcritos normais.
- Variante 5T: Genes transcritos anormais.

Considera-se que são mutações suaves de penetrância incompleta.

MÉTODO

PCR Multiplex

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

25 dias úteis

G6PD - Mutação 202 (G/A)

A deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) é o defeito enzimático conhecido mais prevalente no mundo. As principais manifestações clínicas são icterícia neonatal e anemia hemolítica induzida por algumas drogas e infecções, sendo que ambas podem ser letais.

Este estudo é indicado para confirmar a suspeita de deficiência de G6PD pelo exame de triagem neonatal ("Teste do Pezinho"), para avaliar mulheres que sejam possíveis portadoras (heterozigotas) da mutação 202 (G > A) e elucidar casos em famílias onde já exista um histórico da doença. É importante lembrar que embora mulheres heterozigotas geralmente não manifestem crise hemolítica, a triagem genética é relevante para o aconselhamento genético, uma vez que filhos do sexo masculino apresentam possibilidade de 50% de serem deficientes de G-6-PD.

A investigação da deficiência de G6PD também é recomendada nas áreas endêmicas de malária vivax antes do emprego de tratamento com primaquina que pode desencadear hemólise nos indivíduos que apresentam esta deficiência enzimática.

MÉTODO

PCR - RFLP

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

Gene FLT3 - Prognóstico molecular de LMA

FLT3 (FMS-like tyrosina kinase 3) é um receptor tirosina-quinase, com função bem conhecida na sobrevivência, proliferação e diferenciação celular. É expresso normalmente em células progenitoras hematopoiéticas, o que não ocorre nas células hematopoiéticas diferenciadas. Por sua vez, a linhagem B e as leucemias mielóides agudas (LMA) apresentam super-expressão da proteína FLT3.

As FLT3/ITD são duplicações de 3 a 400 bp no exon 11, sem mudança de matriz de leitura, que afetam cerca de 23% dos pacientes LMA, principalmente quando há contagem alta de células brancas sanguíneas e LMA tipo FAB Mo e M5. Sua presença indica pior prognóstico em pacientes adultos e pediátricos e há evidências que ITD maiores representam maior desvantagem frente às ITD menores.

A mutação pontual FLT3/D835, situada no exon 20, está presente em aproximadamente 8 a 12% dos pacientes LMA. A menor sobrevivência relacionada a FLT3/D835 já foi estimada em até 3 anos em comparação a pacientes LMA com genótipo FLT3/D835 selvagem. As duas mutações são consideradas instáveis, visto que a porcentagem

de alelos mutados do gene FLT3 varia durante o curso da doença, inclusive no tratamento e na(s) recaída(s), além do próprio comprimento da ITD diferir em um mesmo paciente, nas várias etapas da LMA.

MÉTODO

- Mutação FLT3-D835 - PCR - RFLP
- Mutação FLT3-ITD - PCR-Fluorescente e Genotipagem em Sequenciador Automático

CONDIÇÃO

- Preferencialmente sangue de medula óssea em EDTA - 3mL
- Sangue Total em EDTA: Casos especiais após consulta com o setor - 3mL

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis após às 18:30h.

18

Hemocromatose - Diagnóstico molecular da mutação S65C

A Hemocromatose Hereditária (HH), uma desordem no metabolismo do ferro, pode estar relacionada a ocorrência de várias mutações no gene HFE. Foram identificadas cerca de 20 mutações no gene HFE, sendo que há, dentre elas, duas mutações do tipo missense C282Y e H63D mais comumente associadas à HH.

A mutação S65C foi recentemente relacionada a formas leves da doença. Esta mutação determina a conversão do aminoácido serina (S) na posição 65 por cisteína (C), devido a transversão do nucleotídeo adenina (A) para timidina (T), na posição 193 do gene HFE.

A frequência da S65C em caucasianos é de 0.005 a 0.03. Na população brasileira encontra-se em torno de 0.0087. A população equatoriana apresenta uma frequência alélica de 0.04, a mais alta encontrada até o momento. HH de menor gravidade também associa-se à presença de heterozigose composta de H63D/S65C e C282Y/S65C.

Este exame verifica a presença da mutação S65C no gene da hemocromatose, que é a terceira mutação mais comum no gene HFE.

MÉTODO

PCR - RFLP

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y e H63D

Hemocromatose Hereditária clássica (HH) é uma desordem autossômica recessiva comum na população caucasiana, com uma prevalência entre 1:200 a 1:500 indivíduos. Caracteriza-se por aumento inapropriado da absorção do ferro pelo intestino, resultando em seu armazenamento excessivo, principalmente no fígado, pele, pâncreas, coração, articulações e testículos. Os indivíduos não tratados evoluem com fibrose hepática ou cirrose.

Foram identificadas cerca de 20 mutações no gene HFE, sendo que há, dentre elas, duas mutações do tipo *missense* C282Y e H63D mais comumente associadas à HH. Cerca de 90% dos afetados são homocigotos para a mutação C282Y, ou heterocigotos compostos C282Y/H63D. A variante H63D tem menor penetrância e determina formas mais brandas de HH.

Estudos genéticos das mutações C282Y e H63D são indicados para confirmação diagnóstica, como testes preditivos para familiares de afetados que tenham risco aumentado da doença e para identificação de portadores,

além do diagnóstico pré-natal. É importante ressaltar que o encontro de um certo genótipo determina apenas susceptibilidade genética e não firma o diagnóstico de hemocromatose que requer, além das alterações clínicas, outras análises, de acordo com os órgãos afetados.

MÉTODO

PCR Real Time End Point para mutação pontual C282Y e PCR mini sequenciamento para H63D. (Metodologia *in house*)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Hemocromatose - Diagnóstico molecular das mutações C282Y, H63D e S65C

Hemocromatose Hereditária clássica (HH) é uma desordem autossômica recessiva comum na população caucasiana, com uma prevalência entre 1:200 a 1:500 indivíduos. Caracteriza-se por aumento inapropriado da absorção do ferro pelo intestino, resultando em seu armazenamento excessivo, principalmente no fígado, pele, pâncreas, coração, articulações e testículos. Os indivíduos não tratados evoluem com fibrose hepática ou cirrose.

Foram identificadas cerca de 20 mutações no gene HFE, sendo que há, dentre elas, duas mutações do tipo *missense* C282Y e H63D mais comumente associadas à HH. Cerca de 90% dos afetados são homocigotos para a mutação C282Y, ou heterocigotos compostos C282Y/H63D. A variante H63D tem menor penetrância e determina formas mais brandas de HH.

A análise molecular deve ser solicitada para a confirmação do diagnóstico, em pacientes com elevação inexplicável da ferritina ou saturação de transferrina, na avaliação de parentes de pacientes afetados e para diagnóstico pré-natal. O estudo genético da hemocro-

matose plus avalia as 3 mutações, C282Y, H63D e S65C que são as mais frequentemente relacionadas com o desenvolvimento desta doença.

MÉTODO

- PCR-RFLP para mutações pontuais C282Y e H63D
- Sequenciamento de base única em dHPLC para mutações pontuais C282Y e H63D
- PCR Real Time End Point para mutações pontuais C282Y e H63D

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis a

Hemocromatose tipo III - Mutação Y250X no gene TFR2

Hemocromatose tipo 3 esta ligada a mutações no gene do receptor de transferrina tipo 2, localizado no locus 7q22. Y250X é a principal mutação relatada neste gene, com associação a sobrecarga de ferro. A hemacromatose hereditária relacionada a TFR2 (TFR2-HHC) se caracteriza por uma absorção de ferro intestinal aumentada que causa acúmulo de ferro no fígado, coração, pâncreas e nos órgãos endócrinos. O único gene associado a TFR2-HHC é o TFR2 que codifica para o receptor da transferrina-2. Em casos negativos para Y250X, recomenda-se realizar a análise de mutações pontuais p.Arg30ProfsX31, p.Met172Lys, p.Ala621_Gln624del in TFR2, que permitem identificar mutações em cerca de 50% dos indivíduos com TFR2-HHC.

MÉTODO

Amplificação baseada em sequência de ácido nucléico (LOINC®: NASBA)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

20 dias úteis

Hiperplasia adrenal congênita - Estudo molecular da 21 hidroxilase

A deficiência de 21-hidroxilase é um defeito enzimático, de etiologia autossômica recessiva, responsável por cerca de 95% dos casos de hiperplasia supra-renal congênita (HSC), um defeito na síntese de cortisol pelo córtex adrenal e que leva à virilização dos afetados e à perda de sal em alguns casos. O gene ativo CYP21A2 codifica a enzima 21-hidroxilase funcional. Existe um pseudogene CYP21A2P que codifica esta enzima na forma não funcional. Ambos estão localizados no braço curto do cromossomo 6 e apresentam alta homologia. Existem dois tipos de mutações neste gene:

1. Deleção do gene funcional por recombinação assimétrica na meiose
2. Mutações pontuais no gene funcional por conversão gênica através do pseudogene

A técnica de MLPA pode detectar 100% dos casos de deficiência de 21-hidroxilase atribuídas a grandes deleções ou conversões gênicas.

MUTAÇÕES AVALIADAS:

PRO-30-LEU, INTRON 2 (A,C-G), EXON 3(8-bp deleção), ILE-172-ASN, ILE-235-ASN, VAL-236-GLU, MET-238-LYS, VAL-281-LEU, ARG-339-HIS, GLN-318-STOP, PRO-453-SER, ARG-356-TRP.

Este teste apresenta uma sensibilidade de 95%.

MÉTODO

MLPA

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

40 dias úteis após às 18:30h.

20

MCAD - Mutação

A deficiência da enzima acil-coenzima A desidrogenase de cadeia média (MCAD) é o defeito de oxidação de ácidos graxos mais encontrado, com incidência de 1:15.000 em alguns grupos populacionais. O início dos sintomas ocorre entre 3 e 24 meses de vida, após período de jejum e cerca de 25% das crianças têm morte súbita e inesperada, antes da suspeita diagnóstica. A herança é autossômica recessiva.

Ocorre por mutação no gene ACADM, localizado no cromossomo 1. A alteração genética mais prevalente (cerca de 52% dos casos) é a homozigose para a mutação missense A985G, levando a substituição de uma lisina por um ácido glutâmico.

A triagem neonatal da deficiência de MCAD é cada vez mais recomendada na literatura, frente à incidência da doença, às consequências potencialmente fatais e à simplicidade do tratamento. O estudo da mutação A985G é uma das estratégias possíveis para esta triagem.

MÉTODO

PCR - RFLP

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA ou 2 círculos de Sangue em papel filtro saturado nos dois lados do papel.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Sangue: Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

Papel de filtro: Enviar em temperatura ambiente.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

4 dias úteis



MELAS - Miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidose láctica e episódios tipo AVC

A Miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidose láctica e episódios tipo (MELAS) caracteriza-se por retardo de crescimento, convulsões generalizadas ou focais e episódios que parecem AVC isquêmico ou acidente isquêmico transitório, que podem progredir para encefalopatia progressiva e acidose láctica. A intolerância ao exercício é rara. Cerca de 80% dos pacientes com MELAS tem mutação pontual no sítio 3243 ou em algum outro locus, que codificam RNA de transferência. Alterações no genoma mitocondrial das células endoteliais de vasos cerebrais provavelmente são a base para os episódios isquêmicos e enxaquecas. Apresenta herança materna, visto ter origem mitocondrial, mas existem casos esporádicos.

22

As mutações mais comuns nos pacientes com MELAS são A3243G, A3271C e A3291C. A região contendo estas mutações são amplificadas com posterior sequenciamento em duplo sentido e análise de sequência mediante BLAST.

MERRF - Epilepsia Mioclônica com fibras vermelhas rasgadas

Epilepsia Mioclônica com fibras vermelhas rasgadas e caracterizada por crises epiléticas, mioclônicas e tônicas, associadas a miopatia, ataxia e eventualmente, demência, atrofia óptica e neuropatia periférica. É uma patologia hereditária de origem mitocondrial, onde se destacam duas mutações pontuais: A8344G e T8356C, apesar da heterogeneidade genética.

As mutações A8344G e T8356C no DNA mitocondrial provocam uma alteração específica no tRNA do gene Lys e, conseqüentemente, defeitos nas enzimas do complexo I e IV do sistema de fosforização oxidativa.

A amplificação é realizada entre os nucleotídeos 8293 e 8400, região onde se encontra as referidas mutações. Posteriormente, é realizado sequenciamento em duplo sentido e análise de sequência mediante BLAST



MÉTODO

Reação da Cadeia da Polimerase + Sequenciamento

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Sangue: Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

40 dias úteis

MÉTODO

Reação da Cadeia da Polimerase + Sequenciamento

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA.

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Sangue: Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

40 dias úteis

Miopatia mitocondrial tipo Leigh

A síndrome de Leigh é uma doença muito heterogênea, que pode apresentar-se associada a diferentes tipos de herança: autossômica recessiva, ligada ao X ou materna (mitocondrial). A forma dessa doença herdada por via materna é causada por uma mutação no gene da subunidade 6 da ATPase, T8993G/C, a mesma que causa a síndrome de neuropatia, ataxia e retinopatia pigmentar.

MÉTODO

PCR e sequenciamento

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

12 dias úteis

Neurofibromatose tipo 1 (Neurofibromatose de Von Recklinghausen)

As principais manifestações clínicas da neurofibromatose tipo 1 são neurofibromas, manchas café com leite e nódulos de Lisch, que ocorrem em mais de 90% de todos os pacientes durante a puberdade. Ambos os sexos são afetados na mesma proporção. A NF1 ocorre entre 1:3.000 e 1: 5.000 nascidos vivos. A neurofibromatose tipo 1, apesar de sua expressividade variável, é uma das anomalias autossômicas dominantes mais frequentes na espécie humana. Há uma taxa relativamente elevada de casos atribuíveis a mutações novas, 50% dos casos são os únicos na família devido as alterações em sua formação e 80% são de origem paterna. O gene NF1, responsável pela síntese de uma proteína denominada neurofibromina, apresenta 60 exons e está localizado no cromossomo 17 na posição 17q11.2. Quase todas as mutações do gene NF1 relacionadas resultam em neurofibromatose por direcionar a inativação do gene. O diagnóstico pré-natal da NF1 poderá ser realizado através de análise direta de DNA, quando uma mutação específica for identificada na família.

O teste molecular disponibilizado avalia a presença de deleções e duplicações por meio de MLPA e de mutações via sequenciamento.

MÉTODO

MLPA: deleções e duplicações
Sequenciamento: mutações

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA ou swab bucal

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias

TEMPO DE LIBERAÇÃO

40 dias úteis



Neurofibromatose tipo 2

A Neurofibromatose (NF2) é uma facomatose rara, de natureza autossômica dominante e caracterizada por neoplasias e lesões displásicas das células de Schwann (schwannomas e schwannose), de células meníngeas (meningiomas e meningoangiomatose) e de células gliais (ependimomas, outros gliomas e microhamartomas gliais). Na NF2 predominam schwannomas, meningiomas e ependimomas, sendo que schwannomas bilaterais do VIII são diagnósticos. A NF2 apresenta uma série de quadros clínicos, o que faz com que a correlação fenótipo- genótipo indique uma grande variabilidade da expressão clínica da doença. Apresenta incidência de 1 caso para cerca de 40 000 nascidos vivos. A NF2 é causada pela inativação ou perda dos dois alelos do gene supressor de tumor NF2, localizado no braço longo do cromossomo 22. Cerca de 50% dos casos são hereditários, enquanto os demais são provavelmente devido a mutações esporádicas (mutações novas) e representam um mosaicismismo somático. O gene NF2 tem 110 kb e 17

exons e é expressado na maioria dos tecidos, inclusive no cérebro, na forma de proteína merlina ou schwannomina. A merlina mutante provavelmente inibe a adesão celular, havendo correspondência entre o tipo de mutação e a gravidade da neurofibromatose.

MÉTODO

MLPA: deleções e duplicações
Sequenciamento: mutações

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA ou swab bucal

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

40 dias úteis

Neuropatia Hereditária Sensível à Compressão - HNPP

24

A Neuropatia Hereditária Sensível à Compressão (HNPP), também conhecida como “neuropatia tomaculous”, é uma forma frequente de neuropatia periférica autossômica dominante. Em 70% dos casos, é causada por uma deleção de 1.4Mb no gene PMP22, proveniente de *crossing over* desigual no cromossomo 17p11.2-p12. Normalmente se caracteriza por paralisias nervosas sensoriais e motoras, com episódios reversíveis e recorrentes, precipitados por compressão ou trauma. Pr meio

do estudo de vários marcadores distribuídos no gene PMP, mais exatamente na porção distal (D17S9B, D17S9A e D17S2220) e na porção proximal (D17S4A, D17S2227 e D17S2230), e possível realizar o diagnóstico molecular da HNPP, que consiste na presença de um único alelo (hemizigose) nos seis marcadores, indicando a deleção do gene PMP22. A hipótese de homozigose para todos os marcadores deve ser excluída por comparação do material genético do paciente com o de seus pais.

MÉTODO

PCR - Fluorescente e Genotipagem através do sequenciador automático

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis



Surdez congênita - Mutação 35delG

A prevalência de surdez em recém-nascidos é de 1:1000. Cerca de 50% têm causa genética, sendo a maior parte não-sindrômica e de etiologia autossômica recessiva. O gene da conexina 26 é o principal gene envolvido na perda neurossensorial da audição. Este estudo detecta a mutação 35 del G (ou 30 del G) que consiste na principal mutação no gene da conexina. Um resultado negativo não exclui a existência de outras mutações.

MÉTODO

PCR alelo específico para mutação 35delg do gene da conexin 26(GJB2)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

Surdez congênita - Mutação 167T

A prevalência de surdez em recém-nascidos é de 1:1000. Cerca de 50% têm causa genética, sendo a maior parte não-sindrômica e de etiologia autossômica recessiva. O gene da conexina 26 é o principal gene envolvido na perda neurossensorial da audição. Este estudo detecta a mutação 167T, a segunda mutação mais frequente no gene da conexina. Um resultado negativo não exclui a existência de outras mutações.

MÉTODO

PCR RFLP (Metodologia *in house*)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

Diagnóstico molecular para Surdez congênita

A surdez é uma desordem que afeta aproximadamente 1 em cada 1000 crianças e 4% de pessoas acima de 45 anos. Nos países desenvolvidos, aproximadamente 1/3 dos casos de surdez tem origem genética, e outro terço é devido a outras causas tais como infecções materno-fetais, complicações perinatais, meningite, uso pré-natal ou pós-natal de drogas com efeito ototóxico e o restante tem causa indeterminada. Cerca de 80% dos casos de surdez congênita de origem genética são autossômicos recessivos, sendo que 1 em cada 30 indivíduos da população em geral é portador do gene mutante. Tem sido demonstrado que o gene da conexina 26 (*gap junction protein b2 - GJB2*), localizado no cromossomo 13q11 (DFNB1), é o principal gene envolvido na perda neurossensorial da audição (surdez não-sindrômica pré-lingual). A mutação conhecida como 35delG (ou 30delG), é responsável por cerca de 70% dos casos de mutações no gene da conexina 26. Esta mutação pode ser detectada por meio da técnica ARMS (*Amplification Refractory Mutation System*), onde iniciadores alelo-específicos são usados na amplificação dos alelos normal e mutante. A mutação 167T é a segunda mutação mais frequente no

gene da conexina e sua genotipagem pode ser realizada por RFLP. Um resultado negativo não exclui a existência de outras mutações.

A determinação da mutação se aplica a casos em que deseja-se pesquisar a causa da surdez, avaliando também o risco de indivíduos com a doença transmiti-la para seus descendentes.

MÉTODO

PCR ALELO específico para mutação 35DELG E PCR-RFLP para 167T (Metodologia *in house*)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

21 dias úteis

RET- Sequenciamento do Protooncogene

RET: 6 exons 10, 11, 13, 14, 15 e 16

A NEM 2, uma síndrome autossômica dominante com penetrância dependente da idade, está relacionada ao estado ativado do proto-oncogene RET, através de mutações missense localizadas principalmente nos exons 10, 11, 13, 14, 15 e 16. As mutações do RET são encontradas em 95% dos casos índices de NEM 2, quando o *screening* genético é desenvolvido rigorosamente e tem sido consideradas como a causa básica da NEM 2.

A recomendação da análise genética deve ser feita a todos os indivíduos afetados e também a seus ascendentes e descendentes diretos, caso alguma mutação esteja presente. Isso permite a identificação de portadores de mutações no proto-oncogene RET, previamente ao início da sintomatologia e da morbidade relacionadas. Geralmente, o prognóstico de pacientes NEM 2 é melhor quando o diagnóstico é precoce e há intervenção terapêutica em tempo hábil.

A recomendação de testes genéticos também se estende aos casos de carcinoma medular da tireóide (CMT) esporádicos, na tentativa de excluir a hereditariedade do tumor em casos sugestivos, mas que envolvam famílias com poucos membros, tempo insuficiente para as manifestações do feocromocitoma ou do hiperparatireoidismo, história familiar desconhecida e/ou ocorrência de mutações de novo. Portanto, em algumas situações, os resultados dos testes genéticos induzem à reclassificação do paciente quanto ao tipo de tumor apresentado, sendo comum o achado de formas hereditárias entre os aparentemente esporádicos.

Classificação do risco de desenvolvimento de NEM 2 e seus componentes, de acordo com o genótipo RET dos pacientes portadores.

NÍVEL DE RISCO DE NEM 2	CODON COM MUTAÇÃO	FENÓTIPO ASSOCIADO	CONSEQUÊNCIAS
1 (BAIXO)	609 768 790 791 804 891	NEM 2A E CMTF	<ul style="list-style-type: none">• CMT DE COMPORTAMENTO VARIÁVEL• CMT DE CRESCIMENTO LENTO• IDADE MAIS TARDIA• TIREOIDECTOMIA TOTAL, MAS NÃO HÁ CONSENSO SOBRE A IDADE ADEQUADA
2 (ALTO)	611 618 620 634	NEM 2A E CMTF	<ul style="list-style-type: none">• RISCO ALTO DE CMT• TIREOIDECTOMIA ANTES DOS 5 ANOS DE IDADE
3 (MUITO ALTO)	883 918 922	NEM 2B	<ul style="list-style-type: none">• MAIOR AGRESSIVIDADE DO CMT• TIREOIDECTOMIA NOS 6 PRIMEIROS MESES DE VIDA COM DISSECÇÃO NÓDULO CENTRAL

FONTE: BRANDI ET AL, 2001

MÉTODO

PCR e sequenciamento dos exons 10, 11, 13, 14, 15 e 16

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

26



RET- Sequenciamento do Protooncogene RET: exons 10, 11, 13, 14, 15 e 16 individualizados

A recomendação da análise genética do protooncogene RET deve ser feita a todos os indivíduos afetados pelo carcinoma medular. Uma vez detectada uma mutação específica para uma determinada família, é recomendada o *screening* molecular desta alteração genética nos ascendentes e descendentes diretos do indivíduo portador. Isso permite a identificação de portadores de mutações no protooncogene RET, previamente ao início da sintomatologia e da morbidade e relacionadas. Geralmente, o prognóstico de pacientes NEM 2 é melhor quando o diagnóstico é precoce e há intervenção terapêutica em tempo hábil.

Visando mais acesso da população à avaliação genética, disponibilizamos o sequenciamento de cada exon de forma individualizada, o que reduz o custo para os descendentes e ascendentes dos afetados. Recomenda-se enviar o resultado da análise genética do RET do indivíduo portador já genotipado.

Sexagem fetal no sangue materno

Este exame permite conhecer o sexo do feto após 8 semanas de gestação a partir de amostras de plasma materno. Este exame baseia-se no fato que células fetais passam para a circulação sanguínea materna. Mediante a grande sensibilidade do PCR nested, é possível identificar cópias do cromossomo Y presente nas células fetais no plasma materno. Desta forma, a ausência destas cópias indicam também a ausência do cromossomo Y e, conseqüentemente, o sexo do feto é feminino. A sensibilidade da técnica está restrita a idade gestacional e ao sexo do feto, conforme tabela (atualizada em junho de 2004).

FASE DA GRAVIDEZ (SEMANAS)	N	RESULTADO DO TESTE	
		FEMININO (%)	MASCULINO (%)
MENOR QUE 8	39	74	MAIOR QUE 99
8 A 10	174	99	MAIOR QUE 99
11 A 12	122	99	MAIOR QUE 99
MAIOR QUE 13	218	99	MAIOR QUE 99
TOTAL	533	99	MAIOR QUE 99

Não são conhecidas as interferências do uso de medicamentos, estados patológicos da mãe ou do feto e deleções no cromossomo Y na técnica molecular. Este exame NÃO se trata do exame Sexo Genético, de mnemônico SG.

MÉTODO

PCR e sequenciamento

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis



27

MÉTODO

PCR

CONDIÇÃO

1 tubo de plasma colhido em tubo PPT (que já contém EDTA).

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Até 48 horas refrigerado a 4° C.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

10 dias úteis

Sexo genético

Através do estudo de marcadores moleculares para o cromossomo X e Y é possível definir o sexo genético de um indivíduo. O sexo feminino apresenta dois cromossomos X e o sexo masculino um cromossomo X e um Y. O exame molecular é mais seguro que o exame de Cromatina Sexual e mais barato e rápido que o Cariótipo com Banda G. Este teste não é útil para diagnóstico para Síndrome de Turner e não se trata do exame Teste de Sexagem Fetal de mnemônico TSF.

MÉTODO

PCR-STR Fluorescente

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA ou swab bucal

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

2 dias úteis



28

Síndromes de Angelman e Prader-Willi - Estudo molecular

A Síndrome de Prader-Willi (SPW) e a Síndrome de Angelman (SA) são doenças neurogenéticas relacionadas ao fenômeno de impressão genômica na região cromossômica 15q11-13. Ocorre uma alteração cromossômica resultante da deleção de um ou vários genes do braço longo proximal do cromossomo 15 paterno ou materno, respectivamente (70% dos casos). No entanto, em cerca de 25% dos casos, trata-se de uma dissomia uniparental materna ou paterna do cromossomo 15, ou seja, o indivíduo apresenta duas cópias do cromossomos 15 de um genitor e nenhum do outro genitor. A partir da suspeita clínica, o estudo molecular pode contribuir para definição do diagnóstico em 99% dos casos de Prader-Willi e em cerca de 70% dos casos de Angelman.

Dentre os genes já descritos ativos somente no cromossomo 15 paterno, apenas dois, SNRPN e NECDIN, têm produto protéico conhecido que está completamente ausente em pacientes com SPW. A proteína SNRPN está envolvida no splicing do RNA, enquanto a NECDIN é uma proteína nuclear que age principalmente no desenvolvimento cerebral. O gene UBE3A, também localizado nessa região, apresenta-se imprintado e é o único

expresso apenas quando a origem é materna, sugerindo que esse gene seja candidato para AS.

A técnica molecular se mostra eficiente para 99% dos casos de SPW e para 85% dos casos de SA. É indicado quando já têm suspeita clínica de SA ou SPW e se deseja confirmar o diagnóstico.

MÉTODO

Análise da Metilação do Gene SNRPN através do PCR sensível a Metilação (M-PCR)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
Recomenda-se enviar o pedido médico ou informação constando a suspeita clínica do paciente.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

Síndrome de Gilbert - Diagnóstico molecular

A Síndrome de Gilbert se caracteriza por hiperbilirrubinemia indireta leve, crônica, de ocorrência familiar, por deficiência da enzima UDP-glicuroniltransferase. Ocorre por mutação na região promotora do exon 1 do gene que codifica a enzima, localizado no cromossomo 2. É frequente o achado de resultados elevados de bilirrubina sem qualquer explicação aparente. Estes casos só são aceitos após diversas repetições e geralmente há a necessidade de análise genética, o que tem permitido confirmar muitos casos de Síndrome de Gilbert. Atualmente sabe-se que pacientes portadores da Síndrome de Gilbert são mais sensíveis aos efeitos adversos dos anti-neoplásicos e outras drogas que sofrem metabolismo via glicuronidação hepática. Apesar de benigna, é indicado realizar o diagnóstico genético de Síndrome de Gilbert a fim de se afastar a hipótese de doença hepática ou doenças das vias biliares e outras. Vale ressaltar que são necessários outros fatores além do genético para o desenvolvimento da Síndrome de Gilbert, pois fatores ambientais e alterações em outros genes desconhecidos são potenciais desencadeadores.

INTERPRETAÇÃO DOS GENÓTIPOS:

- Genótipos 7/7, 7/8 e 8/8: O indivíduo possui os dois alelos com expansão de dinucleotídeos: alelos 7 e/ou 8, significando que há predisposição genética à Síndrome de Gilbert.

- Genótipos 5/5, 5/6 ou 6/6: Negativo. Não há expansão de dinucleotídeos. Ausência de predisposição genética à Síndrome de Gilbert.
- Genótipos 5/7, 5/8, 6/7 ou 6/8: Heterozigoto. Há um alelo com expansão de dinucleotídeos e outro sem expansão. Ausência de predisposição genética à Síndrome de Gilbert.

MÉTODO

PCR-STR Fluorescente e genotipagem em sequenciador automático

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

15 dias úteis

Síndrome de Silver-Russel - Diagnóstico molecular

A Síndrome de Silver-Russel é caracterizada por baixa estatura de início pré-natal, assimetria corporal, desproporção crânio-facial e perímetro cefálico normal. O gene responsável pela doença ainda não é conhecido, mas alguns casos são relacionados à dissomia materna para o cromossomo 7, que pode ser identificada por meio de estudo molecular.

A dissomia materna do cromossomo 7 é confirmada quando observa-se apenas a presença dos alelos da mãe no resultado do paciente em todos os marcadores. Neste caso, nenhum alelo do cromossomo 7 do pai é transmitido ao filho. Os marcadores analisados no cromossomo 7 são LIMK1, HEI13S e D7S613.

MÉTODO

PCR

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis

Síndrome de Willians - Diagnóstico molecular

O diagnóstico genético da Síndrome de Willians baseia-se na pesquisa de uma deleção na região do gene da elastina situado no cromossomo 7, o que caracteriza as anomalias dentárias e faciais, retardo mental, estenose aórtica supraválvula e estenose pulmonar. O sistema de detecção permite a análise de 3 marcadores situados na região do gene da elastina que está frequentemente deletada em pacientes com síndrome de Williams. A ausência de um dos alelos para o gene da elastina confirma o diagnóstico.

A pesquisa da deleção no gene da elastina para diagnóstico da Síndrome de Willians deve ser realizada para possibilitar o diagnóstico clínico dos indivíduos sintomáticos e como teste pré-natal para famílias de alto risco.

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA ou SWAB bucal
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis

Síndromes genéticas em descendentes judaicos - Estudo molecular

Estudo molecular de síndromes genéticas em descendentes judaicos e um estudo indicado para indivíduos ou casais que pretendam fazer uma triagem dos seguintes estudos moleculares: estudo genético para tay-sachs infantil, detecção molecular das mutações N370S, L444P, R463C para diagnóstico da doença de Gaucher, diagnóstico da ataxia de Machado-Joseph (SCA3), mutação S65C para hemocromatose, mutação 167T no gene da conexina para surdez congênita e estudo genético da doença de Kennedy .

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis

Síndromes genéticas mais frequentes - Estudo molecular

O estudo molecular das principais síndromes genéticas é um estudo indicado para indivíduos ou casais que pretendam fazer uma triagem dos seguintes estudos moleculares: mutação A985G no gene MCAD, detecção molecular da mutação 202 (G-A) da G6PD, mutações C282Y e H63D para hemocromatose, mutação 35 delG no gene da conexina e mutação pontual delta F508 para fibrose cística.

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias
TEMPO DE LIBERAÇÃO	30 dias úteis

30

SRY - Estudo por PCR

O gene SRY é responsável pela diferenciação testicular e determinação do fenótipo masculino. Em homens com cariótipo 46,XX, espera-se que ele esteja presente em algum dos cromossomos X, assim como sua ausência pode ocorrer em mulheres com cariótipo 46,XY. O estudo molecular identifica este marcador do cromossomo Y (SRY) e marcadores do cromossomo X e tem como objetivo a definição de forma rápida e segura do sexo genético de um indivíduo através da utilização deste marcador do cromossomo Y (SRY) e marcadores do cromossomo X. Não é útil para diagnóstico da Síndrome de Turner.

MÉTODO	PCR
CONDIÇÃO	Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	2 dias úteis

Translocação BCR-ABL

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é a doença mieloproliferativa mais comum, representando cerca de 20% a 25 % de todos os casos de leucemia e cerca de 3% das leucemias infantis, sendo que sua incidência é de 1 caso a cada 100.000 pessoas em países ocidentais. Acomete principalmente indivíduos entre 45 e 55 anos, sendo que 30% dos pacientes diagnosticados têm mais de 60 anos.

A LMC caracteriza-se pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph), que resulta da fusão de parte do oncogene ABL no cromossomo 9 com o gene BCR no cromossomo 22. Esta fusão é denominada translocação BCR/ABL (p210) ou translocação t(9;22) e apresenta dois tipos característicos: b2a2 e b3a2.

Embora o diagnóstico da LMC possa ser feito por análise citogenética, tendo uma sensibilidade de 90%, a detecção da translocação BCR/ABL através de Reação em Cadeia da Polimerase Reversa (RT-PCR) é considerada a técnica mais sensível para diagnóstico desta Leucemia (aproximadamente 98% de sensibilidade), podendo identificar uma célula maligna em até 106 células normais.

Devido a sua alta sensibilidade, a RT-PCR é a técnica mais indicada não só para o diagnóstico inicial da LMC, mas também para identificação de células malignas

resistentes após tratamento com quimioterápicos (Doença Residual Mínima) e na monitorização de pacientes submetidos a transplante de medula. Por fim, o controle e a cura da LMC necessitam de um diagnóstico exato, preciso e com alta sensibilidade que só a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase Reversa (RT-PCR) pode oferecer.

MÉTODO	Reação em Cadeia da Polimerase Reversa (RT-PCR)
CONDIÇÃO	Sangue de Medula Óssea em EDTA ou Sangue Total em EDTA
CONSERVAÇÃO PARA ENVIO	Enviar refrigerado entre 2° e 8°C em até 2 dias.
TEMPO DE LIBERAÇÃO	10 dias úteis

X Frágil - Pesquisa molecular do cromossomo

A Síndrome do X Frágil é a segunda causa mais comum de retardo mental (RM), após a síndrome de Down, e responde por cerca de metade dos casos de RM ligado ao X. Manifesta-se, em geral, por retardo mental moderado a grave nos homens e mais leve entre as mulheres acometidas. Podem ocorrer também macrorquidismo, facies alongada, orelhas grandes e prognatismo, além de distúrbios de comportamento. O gene X Frágil (FMR1) foi caracterizado em 1991 e contém uma repetição em tandem da sequência de trinucleotídeos (CGG). A mutação responsável pela síndrome do X Frágil envolve, na maior parte dos casos, a expansão deste segmento repetido, tornando-o instável. Os estudos sobre a transcrição do FMR1 mostraram que os indivíduos com o gene normal e aqueles com a pré-mutação produzem igualmente o mRNA. Já nos indivíduos afetados, o mRNA não é detectado, indicando que o gene está silencioso. A pesquisa molecular de X Frágil tem o objetivo de identificar indivíduos normais, pré-mutados e totalmente mutados.

Devido a possibilidade de grandes expansões, no caso de alelos totalmente mutados, a técnica, apesar de não identificar o número de repetições, possibilita visualizar um padrão de bandas que sugere as expansões completas.

MÉTODO

Ms-PCR (PCR específico a metilação) e mTP-PCR (Triplet- primed PCR)

CONDIÇÃO

Sangue Total em EDTA

CONSERVAÇÃO PARA ENVIO

Enviar em temperatura ambiente até 2 dias ou refrigerado entre 2° e 8°C em até 7 dias.

TEMPO DE LIBERAÇÃO

30 dias úteis



O Hermes Pardini prioriza a constante atualização de técnicas avançadas e metodologias precisas do mundo científico, buscando a prestação de serviços com excelência na área de Genética Molecular. Isto permite atender e superar as expectativas de nossos clientes na qualidade de nossos exames, permitindo com a máxima precisão, detectar a presença de agentes patogênicos responsáveis pelas doenças infecciosas, diagnosticar desordens genéticas e oferecer testes com total confiabilidade.

O diagnóstico genético molecular vem adquirindo papel preponderante na prática da medicina. Muitos médicos, em sua atividade clínica, têm se encontrado por diversas vezes diante da necessidade de confirmar uma hipótese diagnóstica relacionada com uma doença genética. Deste modo, as alternativas apresentadas neste CATÁLOGO são propostas do Laboratório Hermes Pardini para dar suporte aos Laboratórios Conveniados e profissionais médicos, oferecendo estas e futuras alternativas diagnósticas.

A Genética de Microorganismos do Hermes Pardini é reconhecida por oferecer um amplo menu de exames que auxiliam nas decisões clínicas como contribuição para a melhoria da saúde. Disponibilizamos testes moleculares para diagnóstico

preciso e precoce de diversas doenças infecciosas e acompanhamento de pacientes, permitindo um tratamento mais direcionado e o monitoramento da resposta do paciente à terapia.

Dentre as metodologias empregadas temos a Reação em Cadeia de Polimerase(PCR), PCR em Tempo Real, Análise de Perfil de Fragmentação por Enzima de Restrição, Captura Híbrida e Sequenciamento Genético.

Como importantes diferenciais de qualidade, a área apresenta pessoal altamente qualificado para a execução de todos os diagnósticos moleculares e automação total para diagnóstico de alguns microorganismos infecciosos.

A área ocupada pela divisão foi desenhada para atender aos mais altos padrões de qualidade, com fluxo unidirecional, evitando contaminações e garantindo segurança no diagnóstico.

Neste CATÁLOGO DE DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR, os exames são oferecidos ao cliente apresentados por especialidade médica para praticidade e otimização da consulta.

DIAGNÓSTICO EM GENÉTICA MOLECULAR

