

# Manual de Coleta e Transporte de Exames Citogenéticos

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| Introdução.....                               | 03 |
| Exame.....                                    | 05 |
| 1. Cariótipo constitucional.....              | 05 |
| 1.1 Coleta de Sangue periférico.....          | 05 |
| 1.2 Coleta de Fibroblasto de pele.....        | 06 |
| 1.3 Armazenamento temporário da amostra ..... | 06 |
| 1.4 Transporte das amostras.....              | 07 |
| 2. Cariótipo Pré-Natal.....                   | 08 |
| 2.1 Coleta de Líquido Amniótico.....          | 08 |
| 2.2 Coleta de Vilosidade Coriônica.....       | 09 |
| 2.3 Coleta de Material de Aborto.....         | 09 |
| 2.4 Coleta de Sangue Umbilical.....           | 09 |
| 2.5 Armazenamento temporário da amostra.....  | 10 |
| 2.6 Transporte das amostras.....              | 11 |
| 3. Cariótipo Hematológico.....                | 12 |
| 3.1 Coleta de Medula Óssea.....               | 12 |
| 3.2 Armazenamento temporário da amostra.....  | 12 |
| 3.3 Transporte das amostras.....              | 13 |
| Considerações Finais.....                     | 15 |
| Contatos.....                                 | 16 |

## Introdução

### ↳ Objetivo

Este manual visa definir as condições, padronizar diretrizes e oferecer recomendações para a coleta, armazenamento e envio de amostras biológicas na área de Citogenética.

### ↳ Diagnóstico Citogenético

O diagnóstico citogenético contribui diretamente para a tomada de decisões médicas e para o melhor entendimento de condições de saúde relacionadas à identificação e caracterização de alterações no número ou na estrutura dos cromossomos. Esses exames são fundamentais para o diagnóstico de síndromes genéticas, fornecer informações que auxiliem na previsão da evolução clínica e no planejamento de tratamento, aconselhamento genético, avaliação de fertilidade e abortos recorrentes e monitoramento de pacientes oncológicos.

### ↳ Manuseio de amostras biológicas

A cultura celular bem-sucedida depende de muitos fatores, incluindo a segurança e a qualidade da coleta, assim como o transporte da amostra e a assepsia no momento da coleta. Desta forma, reunimos todas as informações necessárias para a coleta e transporte bem-sucedido de cada amostra que serão especificados nos capítulos a seguir deste Manual.

De acordo com a RDC 786, de maio de 2021, o transporte das amostras deve ser sempre realizado em embalagens secundárias e terciárias, que devem ser claramente identificadas como contendo risco biológico. Em nenhuma circunstância, as amostras podem ser transportadas apenas em embalagens primárias. Portanto, os tubos de coleta devem ser colocados em embalagens secundárias, e estas, por sua vez, devem ser acondicionadas em caixas térmicas. É fundamental também garantir a integridade dos frascos e tubos de coleta, assegurando que estejam corretamente fechados para evitar vazamentos do conteúdo.

### ↳ Critérios de rejeição de amostras

Os critérios de rejeição de amostras citogenéticas são baseados em aspectos relacionados à qualidade da coleta, transporte e condição da amostra. O não cumprimento de determinadas condições pode comprometer a viabilidade celular e a confiabilidade dos resultados. Abaixo estão os principais critérios de rejeição:

- Amostras Coletadas em Anticoagulante Inadequado
- Amostras com Tempo Prolongado entre Coleta e Recepção
- Amostras Coletadas ou Transportadas em Condições Inadequadas
- Amostra biológica enviada em temperatura ambiente ou congelada;
- Amostras Hemolisadas

- Volume Insuficiente
- Contaminação Visível
- Identificação Inadequada ou Faltante
- Amostras sem formulário preenchido adequadamente e/ ou sem o pedido médico anexado.
- Amostras com Condições Incompatíveis
- Tecido Fetal ou Aborto Impropriamente Manipulado
- Amostras Fragmentadas ou Inadequadas para Cultura

Esses critérios visam garantir a qualidade e a precisão dos resultados, evitando análises de amostras que possam levar a resultados inconclusivos ou incorretos.

## Exames

### 1. Cariótipo constitucional

Investiga por bandeamento G ou alta resolução alterações numéricas ou estruturais.

| CARIÓTIPO CONSTITUCIONAL |   |
|--------------------------|---|
| Exames                   | Cariótipo Banda G - 20 células                        |
|                          | Cariótipo Banda G - 50 células                        |
|                          | Cariótipo Banda G - 100 células                       |
|                          | Cariótipo Alta resolução 20 células                   |
|                          | Cariótipo Alta resolução 50 células                   |
|                          | Cariótipo Alta resolução 100 células                  |
|                          | Cariótipo com Pesquisa de Quebras Cromossômicas       |
|                          | Cariótipo para Pesquisa de Sítio Frágil - 20 células  |
|                          | Cariótipo para Pesquisa de Sítio Frágil - 50 células  |
|                          | Cariótipo para Pesquisa de Sítio Frágil - 100 células |
|                          | Cariótipo com Banda G de Fibroblasto em Pele          |
| Material                 | Sangue<br>Fibroblasto de Pele                         |

#### 1.1 Coleta de Sangue periférico

Para garantir a integridade da amostra e sucesso no processo de cultura celular, é necessário que os seguintes procedimentos sejam seguidos:

- Usar preferencialmente agulhas do tamanho 25x7, dado que agulhas de tamanhos menores propende a coagular o sangue e inviabilizar a cultura;

- Usar seringas da marca BD, pois ela possui especificações reconhecidas para o melhor crescimento da cultura celular. O uso de outras marcas de seringa corre o risco de não obter resultado do cariótipo e ser necessário chamar o paciente para coletar novamente;
- Evitar realizar coleta a vácuo pois pode comprometer a amostra devido a hemólise. A hemólise é uma das principais causas de falhas no crescimento celular;
- Coletar o sangue total em tubo com heparina sódica (verde ou azul escuro) e homogeneizar com movimentos lentos de inversão. A homogeneização inadequada pode resultar em micro coágulos. Se a amostra for agitada ou homogeneizada de forma intensa pode ocorrer hemólise das células o que pode inviabilizá-la;
- Crianças idade acima de 5 anos e Adultos: 5mL;
- Crianças com idade de até 5 anos: 3mL;
- O material biológico deve estar corretamente identificado;
- Enviar amostra única para a realização deste exame.
- Proibido o congelamento das amostras.

## 1.2 Coleta de Fibroblasto de pele

Para garantir a integridade da amostra e sucesso no processo de cultura celular, é necessário que os seguintes procedimentos sejam seguidos:

- A biópsia de pele é realizada pelo médico do paciente;
- Fragmento de pele com 30 a 50mg ou 2 a 4mm<sup>3</sup> (região sem pelos);
- Enviar a amostra conservada em frasco estéril contendo soro fisiológico estéril totalmente submerso.
- Proibido o congelamento das amostras.

**Cariótipo é um exame de baixa estabilidade (48 horas), por esse motivo deve ser transportado no mesmo dia da coleta.**

Em casos onde os resultados obtidos não se enquadram nos requisitos mínimos de qualidade estabelecidos, será solicitada uma nova coleta do material.

## 1.3 Armazenamento temporário da amostra

O tempo de armazenamento temporário deve ser o mais curto possível, até que a empresa responsável busque o material para o transporte, preferencialmente de até 24 horas. O rápido transporte para o laboratório é essencial para garantir que as amostras sejam processadas dentro do prazo recomendado e preservem a viabilidade das células para a cultura e análise citogenética.

- As amostras devem ser armazenadas temporariamente em uma caixa térmica com controle de temperatura entre 9°C e 12°C. Este intervalo é ideal para manter a

viabilidade celular sem comprometer a qualidade do material biológico. É importante que as amostras sejam protegidas de variações bruscas de temperatura.

- As amostras não devem ter contato direto com o gelo reutilizável (gelox) ou outro tipo de agente refrigerante, pois o contato direto pode causar congelamento localizado das células, levando à perda da viabilidade. Para evitar esse contato, recomenda-se que as amostras sejam acondicionadas em sacos, recipientes plásticos estéreis, estantes ou colocadas sobre uma barreira, como uma toalha de papel ou espuma, dentro da caixa térmica.
- O armazenamento de amostras citogenéticas em geladeira, embora possível, deve ser evitado, pois variações de temperatura e condições de umidade dentro do equipamento podem comprometer a viabilidade celular. Além disso, o ambiente de refrigeração de uma geladeira comum pode não ser ideal para amostras citogenéticas sensíveis. Nossa experiência laboratorial indica que as amostras demonstram uma performance melhor fora da geladeira, quando armazenadas temporariamente em uma caixa térmica adequada.

Ao seguir essas orientações, o risco de degradação celular é minimizado, assegurando resultados mais precisos e confiáveis para os exames citogenéticos.

#### 1.4 Transporte das amostras

As amostras biológicas devem ser transportadas em temperatura entre 2°C e 8°C e processadas o mais rápido possível após a coleta, preferencialmente dentro de 48 horas.

- Utilizar uma caixa térmica de tamanho médio (8 litros). Para manter a temperatura entre 2°C e 8°C por 48 horas, geralmente são recomendados 6 blocos de gelox de tamanho médio (cerca de 400g a 500g cada).
- Posicionar dois blocos de gelox na base da caixa, criando uma barreira entre o fundo e as amostras. Colocar quatro blocos de gelox nas laterais, 2 na esquerda e dois na direita, com a amostra no centro, sempre sem contato direto, utilizando separadores como espuma, toalhas de papel ou plástico bolha.
- Caso a caixa térmica seja maior, coloque mais gelox.
- Certifique-se de que os gelox estejam bem congelados (normalmente em torno de -20°C) antes de colocá-los na caixa. Gelox parcialmente congelados não manterão a temperatura por 48 horas.
- Evite espaços vazios, caso haja espaço vazio significativo na caixa térmica, preencha-o com material isolante, como papel bolha ou espuma, evitando que as amostras se movimentam no momento do transporte e pode ajudar a manter a temperatura por mais tempo.
- O tipo de isolamento da caixa térmica influencia a quantidade de gelox necessária. Uma caixa de boa qualidade, com isolamento denso, pode manter a temperatura por mais tempo com menos gelox.

Seguindo essas orientações e realizando os ajustes necessários de acordo com as condições reais do transporte, as amostras devem se manter dentro da faixa de temperatura desejada.

## 2. Cariótipo Pré-Natal

Requer material celular fetal, existem diferentes técnicas que permitem obter material para realizá-lo e o seu uso depende do tempo de gestação, questão clínica e o risco da intervenção.

| CARIÓTIPO PRÉ-NATAL |   |
|---------------------|---|
| Exames              | Cariótipo com Banda G em Líquido Amniótico  |
|                     | Cariótipo com Banda G em Vilo Corial/Vilosidade Coriônica                           |
|                     | Cariótipo com Banda G em Material de Aborto   |
|                     | Cariótipo Fetal com Banda G   |
| Material            | Líquido Amniótico<br>Vilosidade Coriônica<br>Material de Aborto<br>Sangue Umbilical |

### 2.1 Coleta de Líquido Amniótico

O cariótipo em líquido amniótico deve ser realizado a partir de 14 semanas de gestação, de preferência entre 15 e 20 semanas de gestação.

- O material é colhido pelo médico do paciente.
- A amostra deve conter 20 mL de líquido amniótico.
- Coletar em seringa atóxica (marca BD) e encaminhar a mesma sem agulha e fechada com uma tampa especial para seringas.
- Não usar anticoagulante.
- O método recomendado é realizar a coleta utilizando duas seringas de 10 mL cada, por meio de amniocentese guiada por ultrassonografia. A primeira porção do líquido amniótico coletado pode conter sangue materno proveniente do trajeto da agulha através do útero e da cavidade amniótica. Já a segunda porção do líquido amniótico, coletada logo após, tem menor chance de conter sangue materno, sendo mais confiável para o cultivo celular. As duas porções serão utilizadas, nossa experiência laboratorial indica que as amostras demonstram uma melhor performance quando não contaminadas com o sangue materno, esse cuidado garante ao laboratório maior precisão nos resultados.
- Proibido o congelamento das amostras.

## 2.2 Coleta de Vilosidade Coriônica

O cariótipo em vilosidade coriônica é realizado preferencialmente entre a 11<sup>a</sup> e a 14<sup>a</sup> semana de gestação.

- O material é colhido pelo médico do paciente.
- A amostra deve conter preferencialmente entre 10 a 50 mg.
- Coletar em seringa atóxica (marca BD) e encaminhar a mesma sem agulha e fechada com uma tampa especial para seringas.
- Não usar anticoagulante.
- Também é possível alocar a amostra em frasco com solução fisiológica estéril.
- Proibido o congelamento das amostras.

## 2.3 Coleta de Material de Aborto

É possível enviar amostras como: saco gestacional completo, pequenos fragmentos de pele fetal ou cordão umbilical, membranas amnióticas e/ou placenta. A falta de embrião não impede a realização do exame.

- O material é colhido pelo médico do paciente.
- A amostra deve conter preferencialmente entre 10 a 50 mg.
- O material deve ser transferido para um recipiente estéril com soro fisiológico.
- De acordo com a resolução nº 1.779/2005 do Conselho Federal de Medicina, fetos que pesem 500 g ou, o feto tiver estatura igual ou superior a 25 cm ou mais, ou material de aborto oriundo de gestações com duração igual ou superior a 20 semanas, são classificados pela legislação como natimortos e devem ser encaminhados para necropsia no Serviço de Verificação de Óbitos (SVO) ou no Instituto Médico Legal (IML). O laboratório não recebe materiais nessas condições
- Não pode ser congelado, nem aquecido, nem colocado em formol ou álcool.

## 2.4 Coleta de Sangue Umbilical

O exame é realizado por punção de cordão umbilical (cordocentese) a partir da 20<sup>a</sup> semana de gestação.

- O material é colhido pelo médico do paciente.
- Devem ser coletados de 3 a 5 mL de sangue fetal em heparina sódica (tampa verde), ou seringa heparinizada.
- O sangue fetal deve ser imediatamente transferido para um tubo com heparina sódica, pois isso evita a coagulação do sangue, que pode comprometer a cultura celular e a análise citogenética.

- Também é possível enviar o sangue na própria seringa. Para isso, o método recomendado é aspirar uma pequena quantidade de heparina sódica (cerca de 100 a 200 UI/mL) diretamente de um frasco estéril. A quantidade deve ser suficiente para cobrir toda a superfície interna da seringa, mas não em excesso, para não diluir o sangue fetal. Após revestir a seringa, descarte o excesso de heparina. Certifique-se de que a seringa contenha apenas uma quantidade residual de heparina nas paredes internas, sem grandes volumes de solução, pois isso poderia diluir a amostra de sangue fetal. Após a coleta, retire a agulha e substitua-a por um tampão estéril ou feche bem a seringa com a tampa original, mantendo-a estéril.

**Cariótipo é um exame de baixa estabilidade (48 horas), por esse motivo deve ser transportado no mesmo dia da coleta.**

Em casos onde os resultados obtidos não se enquadram nos requisitos mínimos de qualidade estabelecidos, será solicitada uma nova coleta do material.

## 2.5. Armazenamento temporário da amostra

O tempo de armazenamento temporário deve ser o mais curto possível, até que a empresa responsável busque o material para o transporte, preferencialmente de até 24 horas. O rápido transporte para o laboratório é essencial para garantir que as amostras sejam processadas dentro do prazo recomendado e preservem a viabilidade das células para a cultura e análise citogenética.

- As amostras devem ser armazenadas temporariamente em uma caixa térmica com controle de temperatura entre 9°C e 12°C. Este intervalo é ideal para manter a viabilidade celular sem comprometer a qualidade do material biológico. É importante que as amostras sejam protegidas de variações bruscas de temperatura.
- As amostras não devem ter contato direto com o gelo reutilizável (gelox) ou outro tipo de agente refrigerante, pois o contato direto pode causar congelamento localizado das células, levando à perda da viabilidade. Para evitar esse contato, recomenda-se que as amostras sejam acondicionadas em sacos, recipientes plásticos estéreis, estantes ou colocadas sobre uma barreira, como uma toalha de papel ou espuma, dentro da caixa térmica.
- O armazenamento de amostras citogenéticas em geladeira, embora possível, deve ser evitado, pois variações de temperatura e condições de umidade dentro do equipamento podem comprometer a viabilidade celular. Além disso, o ambiente de refrigeração de uma geladeira comum pode não ser ideal para amostras citogenéticas sensíveis. Nossa experiência laboratorial indica que as amostras demonstram uma performance melhor fora da geladeira, quando armazenadas temporariamente em uma caixa térmica adequada.

Ao seguir essas orientações, o risco de degradação celular é minimizado, assegurando resultados mais precisos e confiáveis para os exames citogenéticos.

## 2.6 . Transporte das amostras

As amostras biológicas devem ser transportadas em temperatura entre 2°C e 8°C e processadas o mais rápido possível após a coleta, preferencialmente dentro de 48 horas.

- Utilizar uma caixa térmica de tamanho médio (8 litros). Para manter a temperatura entre 2°C e 8°C por 48 horas, geralmente são recomendados 6 blocos de gelox de tamanho médio (cerca de 400g a 500g cada).
- Posicionar dois blocos de gelox na base da caixa, criando uma barreira entre o fundo e as amostras. Colocar quatro blocos de gelox nas laterais, 2 na esquerda e dois na direita, com a amostra no centro, sempre sem contato direto, utilizando separadores como espuma, toalhas de papel ou plástico bolha.
- Caso a caixa térmica seja maior, coloque mais gelox.
- Certifique-se de que os gelox estejam bem congelados (normalmente em torno de -20°C) antes de colocá-los na caixa. Gelox parcialmente congelados não manterão a temperatura por 48 horas.
- Evite espaços vazios, caso haja espaço vazio significativo na caixa térmica, preenchê-lo com material isolante, como papel bolha ou espuma, evita que as amostras se movimentam no momento do transporte e pode ajudar a manter a temperatura por mais tempo.
- O tipo de isolamento da caixa térmica influencia a quantidade de gelox necessária. Uma caixa de boa qualidade, com isolamento denso, pode manter a temperatura por mais tempo com menos gelox.

Seguindo essas orientações e realizando os ajustes necessários de acordo com as condições reais do transporte, as amostras devem se manter dentro da faixa de temperatura desejada.

### 3. Cariótipo Hematológico

Utilizado para identificar alterações numéricas ou estruturais, que possam auxiliar no diagnóstico e prognóstico de pacientes com suspeita de desordens hematológicas.

| CARIÓTIPO HEMATOLÓGICO |   |
|------------------------|---|
| Exames                 | Cariótipo Hematológico Banda G em Aspirado Medular  |
|                        | Cariótipo Hematológico Banda G em Sangue Periférico |
| Material               | Sangue Periférico<br>Medula Óssea                   |

#### 3.1 Coleta de Medula Óssea

A execução do cariótipo hematológico em sangue periférico é recomendada apenas na impossibilidade de realizar a coleta de medula óssea, ou na presença de mais de 20% de blastos circulantes. Se for necessário enviar o sangue para este exame seguir as orientações na seção 1.1.

- O material é colhido pelo médico do paciente.
- Coletar de 3 a 5 mL de aspirado medular em tubo com anticoagulante heparina (tubo de tampa verde ou azul) ou em seringa heparinizada (encaminhar sem agulha e vedada com tampa).
- Proibido o congelamento das amostras.

**Cariótipo é um exame de baixa estabilidade (48 horas), por esse motivo deve ser transportado no mesmo dia da coleta.**

Em casos onde os resultados obtidos não se enquadram nos requisitos mínimos de qualidade estabelecidos, será solicitada uma nova coleta do material.

#### 3.2 Armazenamento temporário da amostra

O tempo de armazenamento temporário deve ser o mais curto possível, até que a empresa responsável busque o material para o transporte, preferencialmente de até 24 horas. O rápido transporte para o laboratório é essencial para garantir que as amostras sejam processadas dentro do prazo recomendado e preservem a viabilidade das células para a cultura e análise citogenética.

- As amostras devem ser armazenadas temporariamente em uma caixa térmica com controle de temperatura entre 9°C e 12°C. Este intervalo é ideal para manter a

viabilidade celular sem comprometer a qualidade do material biológico. É importante que as amostras sejam protegidas de variações bruscas de temperatura.

- As amostras não devem ter contato direto com o gelo reutilizável (gelox) ou outro tipo de agente refrigerante, pois o contato direto pode causar congelamento localizado das células, levando à perda da viabilidade. Para evitar esse contato, recomenda-se que as amostras sejam acondicionadas em sacos, recipientes plásticos estéreis, estantes ou colocadas sobre uma barreira, como uma toalha de papel ou espuma, dentro da caixa térmica.
- O armazenamento de amostras citogenéticas em geladeira, embora possível, deve ser evitado, pois variações de temperatura e condições de umidade dentro do equipamento podem comprometer a viabilidade celular. Além disso, o ambiente de refrigeração de uma geladeira comum pode não ser ideal para amostras citogenéticas sensíveis. Nossa experiência laboratorial indica que as amostras demonstram uma performance melhor fora da geladeira, quando armazenadas temporariamente em uma caixa térmica adequada.

Ao seguir essas orientações, o risco de degradação celular é minimizado, assegurando resultados mais precisos e confiáveis para os exames citogenéticos.

### 3.3 Transporte das amostras

As amostras biológicas devem ser transportadas em temperatura entre 2°C e 8°C e processadas o mais rápido possível após a coleta, preferencialmente dentro de 48 horas.

- Utilizar uma caixa térmica de tamanho médio (8 litros). Para manter a temperatura entre 2°C e 8°C por 48 horas, geralmente são recomendados 6 blocos de gelox de tamanho médio (cerca de 400g a 500g cada).
- Posicionar dois blocos de gelox na base da caixa, criando uma barreira entre o fundo e as amostras. Colocar quatro blocos de gelox nas laterais, 2 na esquerda e dois na direita, com a amostra no centro, sempre sem contato direto, utilizando separadores como espuma, toalhas de papel ou plástico bolha.
- Caso a caixa térmica seja maior, coloque mais gelox.
- Certifique-se de que os gelox estejam bem congelados (normalmente em torno de -20°C) antes de colocá-los na caixa. Gelox parcialmente congelados não manterão a temperatura por 48 horas.
- Evite espaços vazios, caso haja espaço vazio significativo na caixa térmica, preenchê-lo com material isolante, como papel bolha ou espuma, evita que as amostras se movimentem no momento do transporte e pode ajudar a manter a temperatura por mais tempo.
- O tipo de isolamento da caixa térmica influencia a quantidade de gelox necessária. Uma caixa de boa qualidade, com isolamento denso, pode manter a temperatura por mais tempo com menos gelox.

Seguindo essas orientações e realizando os ajustes necessários de acordo com as condições reais do transporte, as amostras devem se manter dentro da faixa de temperatura desejada.

## Considerações Finais

A aplicação cuidadosa das técnicas descritas neste manual permite o diagnóstico correto de alterações cromossômicas, contribuindo diretamente para o manejo clínico adequado dos pacientes. A citogenética continua sendo uma ferramenta essencial na medicina diagnóstica e, com a implementação desses protocolos, asseguramos que o laboratório esteja preparado para oferecer exames de alta qualidade, alinhados aos padrões internacionais.

É crucial que todos os profissionais envolvidos no processo, desde a coleta até a análise, compreendam a importância dos cuidados detalhados para a preservação da viabilidade celular e o sucesso do exame citogenético. O controle rigoroso da temperatura, a utilização de materiais adequados e o transporte seguro são fatores determinantes para evitar a degradação das amostras e garantir a integridade dos resultados.

Por fim, o compromisso com a qualidade, a atualização constante e a precisão no manuseio das amostras são pilares fundamentais para a excelência no diagnóstico citogenético.

## Contatos

|                 |                             |
|-----------------|-----------------------------|
| Comercial       | comercial01@grupovidabr.com |
| Citogenética    | lorrayne@grupovidabr.com    |
| Diretor Técnico | ricardo@grupovidabr.com     |
| Site            | grupovidabr.com             |
| Instagram:      | @grupovidabr                |
| Telefone        | 62 3945 -8162 / 3092-1161   |