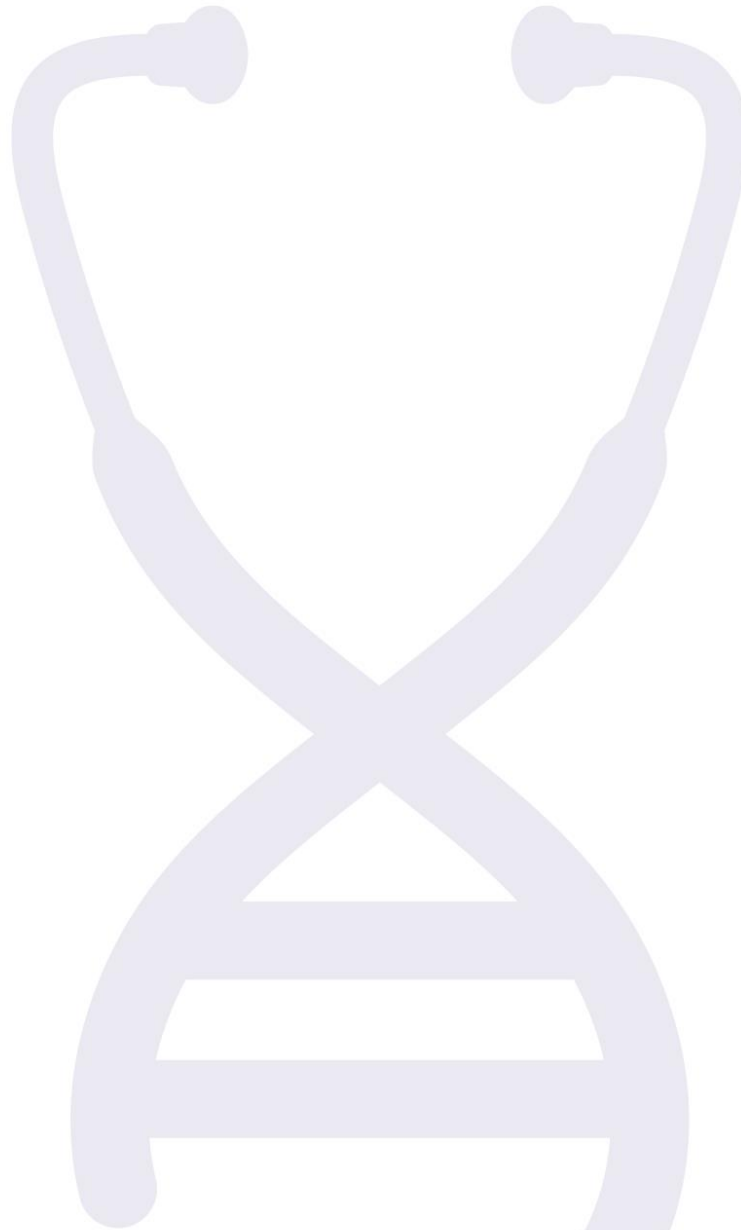




PARECER TÉCNICO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE GENÉTICA MÉDICA E GENÔMICA SOBRE TESTES GENÉTICOS

VOLUME 1
**RECOMENDAÇÕES SOBRE A QUALIDADE TÉCNICA E LAUDO DOS PRINCIPAIS
EXAMES EM GENÉTICA MÉDICA.**

2018/2020



Grupo de Trabalho da Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica (SBGM)
sobre exames genéticos – 2018/2021:

- Coordenação: Rodrigo Ambrosio Fock
- Vice-Coordenação: Iscia Lopes-Cendes
- Participação na elaboração: Eduardo Perrone, Flavia Balbo Piazzon, Guilherme Lopes Yamamoto, Henrique de Campos Reis Galvão, Larissa Sampaio de Athayde Costa, Michele Migliavacca, Maria Denise Fernandes Carvalho de Andrade, Renata Moldenhauer Minillo, Tatiana Ferreira de Almeida

Diretoria da SBGM gestão 2018/2021

Sumário

Nota do Grupo de Trabalho	5
Nota da Presidente da SBGM	6
Introdução	8
Definições Gerais de Qualidade Independente da Técnica	13
Definições Gerais de Laudo Independente da Técnica	14
Cariótipo	15
Qualidade Técnica	15
Laudo	15
MLPA	16
Qualidade Técnica	16
Laudo	16
FISH	17
Qualidade Técnica	17
Laudo	17
Análise Cromossômica por <i>Microarray</i> (CGH-Array e SNP-Array)	18
Qualidade Técnica	18
Laudo	20
Sequenciamento Independente da Técnica	21
Laudo	21
Sequenciamento de Sanger	22
Qualidade Técnica	22
Laudo	22
Sequenciamento de Nova Geração	23
Qualidade Técnica	23
Laudo	24
Diagnóstico de Laboratório Molecular ABC	27
Considerações Finais	28
Lista de Genes Principais (“Core”)	29
Referências	37

Nota do Grupo de Trabalho

Este documento contém recomendações propostas pela Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica (SBGM) a respeito dos principais exames genéticos utilizados na prática clínica. Seguindo a necessidade visível dos seus associados, a SBGM formou um Grupo de Trabalho encarregado de preparar esse documento que será apresentado em dois volumes. O volume 01 tem enfoque nas orientações sobre parâmetros de qualidade técnica que a SBGM sugere de serem seguidos pelos laboratórios que realizam um exame genético, assim como sobre as informações que a SBGM sugere que estejam presentes no laudo do exame. O volume 02 trará informações do que são considerados preceitos éticos fundamentais sobre a forma mais adequada para que os laboratórios lidem com as informações geradas pelos exames genéticos, explorando temas relacionados a testes direto ao consumidor e de genética personalizada, incluindo os testes de nutrigenética, genética do esporte, dermatogenética, e outros que se enquadrem nessa categoria.

O grupo de trabalho responsável por emitir tais pareceres é composto por membros titulados da SBGM, com conhecimento e atuação na área. Durante a elaboração dos pareceres, os integrantes do grupo se reuniram presencialmente de forma periódica para discussão e elaboração do documento, além de realizar revisões, levantamentos bibliográficos e discussões sobre os temas aqui contemplados. Após a elaboração de um documento prévio, os membros da SBGM foram consultados e convidados a se manifestar através de sugestões e modificações. Por fim, essa é a versão final desse processo, que ocorreu ao longo do ano de 2018, 2019 e 2020.

Vale ressaltar que esse documento poderá, e deverá, ter atualizações periódicas. Sem dúvidas, é de conhecimento que o avanço tecnológico e do conhecimento médico podem levar a novas orientações e paradigmas, assim como a incorporação de novos exames e técnicas. Nesse sentido, é importante observar se a versão que tem em mãos é a mais atualizada. No site da SBGM será possível encontrar a versão mais atualizada (www.sbgm.org.br).

Rodrigo Ambrosio Fock

Coordenador do Grupo de Trabalho da Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica sobre exames genéticos – 2018/2021

Nota da Presidente da SBGM

O crescente avanço da medicina tem proporcionado uma melhora no diagnóstico e tratamento de doenças genéticas. A utilização de novas tecnologias no diagnóstico de doenças genéticas é uma realidade na prática clínica atual.

A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica (SBGM) preocupada com o aumento de oferta de testes genéticos para diagnóstico de doenças genéticas e falta de padronização dos mesmos, resolveu criar um Grupo de Trabalho para estudar esses parâmetros.

O GT foi composto por membros titulados da SBGM com expertise na área de testes laboratoriais que se reuniram periodicamente para elaborar este documento.

Acreditamos que este documento deva ser um norteador para médicos e também laboratórios do Brasil que realizam testes genéticos com o intuito de oferecer testes de qualidade para a nossa população.

Têmis Maria Félix

Presidente da Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica – 2018/2021

Introdução

Com o grande desenvolvimento tecnológico das últimas duas décadas, nossa capacidade de identificar as alterações genéticas específicas que causam ou predisõem a doenças aumentou consideravelmente. Inicialmente, esses avanços na pesquisa contribuíram muito para o melhor entendimento dos mecanismos básicos que causam doença, porém à medida que estão sendo incorporados à prática clínica promovem uma verdadeira revolução na maneira como praticamos a medicina moderna.

A incorporação das tecnologias de diagnóstico genético na prática clínica mostra-se benéfica, possibilitando o diagnóstico mais específico de várias doenças. No entanto, como acontece com a incorporação de qualquer nova tecnologia médica, a ampla disponibilidade de testes genéticos também criou novas dúvidas, dificuldades e dilemas médicos e éticos. É certo também que a maior disponibilidade de testes genéticos é um processo contínuo ao qual o médico deve se habituar e procurar constante atualização.

Frente a esse contexto e tendo em vista a crescente oferta de laboratórios e exames que são disponibilizados diariamente aos médicos e ao público, a Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica (SBGM) elabora esse parecer técnico, baseado na literatura científica disponível e na experiência de seus membros, com o objetivo de orientar os laboratórios sobre o que os médicos geneticistas brasileiros consideram como parâmetros de excelência frente a qualidade técnica e ao formato e informações constantes no laudo dos exames, além de servir como guia para que colegas médicos de outras especialidades se pautem na hora de avaliar a confiabilidade de um exame genético que venham a receber.

Conceitos básicos e definições:

Para um melhor entendimento dos conceitos e ideias que serão aqui discutidos cabem algumas definições. Desse modo, define-se teste genético, como o uso da informação genética para i) elucidar o diagnóstico em indivíduos que já apresentam sintomas de uma doença, em qualquer grau de complexidade ii) ou para prever a probabilidade de doença em indivíduos em risco de desenvolvê-la devido a histórico familiar(1).

Quando se analisa o uso de testes genéticos na prática clínica, recomenda-se a avaliação baseada em três aspectos principais: a Validade Analítica, Validade Clínica, e a Utilidade Clínica (2,3). Estes conceitos são discutidos abaixo:

- a) **Validade Clínica:** É definida como a acurácia com que o teste identifica o estado clínico do paciente, ou seja, discrimina entre ter a doença e não ter a doença. A validade clínica de um teste é quantificada, levando-se em consideração a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo do teste (VPN) avaliado (2,3).
 - i. Sendo **sensibilidade:** calculada entre os indivíduos com a doença, quantos têm teste positivo.
 - ii. **Especificidade:** calculada entre os indivíduos que não tem a doença, quantos tem teste negativo.
 - iii. **VPP:** calculado entre os indivíduos com teste positivo, quantos são verdadeiramente positivos.

iv. **VPN**: calculado entre os indivíduos com teste negativo, quantos são verdadeiramente negativos

b) **A Utilidade Clínica** é avaliada levando-se em conta os riscos e benefícios advindos do teste genético. As considerações mais importantes para se determinar a utilidade clínica são:

i. Se o teste em si ou qualquer intervenção subsequente derivada do resultado deste poderá levar a um benefício para a saúde individual ou populacional.

ii. Quais são os custos e riscos potenciais que podem advir como resultado do teste ou do processo de realização deste.

Para que se possa avaliar de maneira adequada a utilidade clínica de um teste é importante levar em consideração os aspectos médicos da melhora na saúde (resultante de uma possível intervenção a depender do resultado do teste), mas também os aspectos emocionais, sociais e psicológicos que podem advir ou influenciar o bem estar e qualidade de vida do paciente e de sua família. Quando tratamento não é disponível ou não mudará com o resultado do teste genético, ainda assim um teste pode ter utilidade clínica. Nesse caso leva-se em consideração principalmente a capacidade do teste de determinar o diagnóstico e estabelecer prognóstico (2,3).

Na avaliação da utilidade clínica do teste é importante estabelecer se os benefícios advindos da realização do teste superam os custos e/ou riscos em potencial. Como benefícios em potencial dos testes genéticos, podemos citar: esclarecimento do diagnóstico; fornecimento de informações sobre o prognóstico; promoção de mudanças no tratamento; redução da necessidade de realização de outros exames de alto custo, desconfortáveis e/ou invasivos; fornecimento de informações sobre riscos de recorrência para a prole e outros membros da família, podendo influenciar a tomada de decisão sobre a reprodução.

Entre os riscos em potencial podemos citar: aumento do *stress* psicológico; discriminação por empresas de seguro saúde, seguro de vida ou até empregadores; efeitos negativos na comunicação e dinâmica familiar e relações sociais; exacerbação de estigma que pode se estender para os outros membros da família (1,5). Recomenda-se, portanto, que tanto os possíveis benefícios quanto os riscos em potencial devem ser discutidos cuidadosamente com o paciente e familiares no período pré-teste.

c) **Validade Analítica** refere-se à acurácia com que a alteração genética (ex. alteração na sequência do DNA, alteração cromossômica estrutural ou numérica) pode ser identificada pelo teste genético (4). Atualmente, a maioria das alterações genéticas de importância clínica pode ser identificada por vários métodos diferentes o que torna complexa a avaliação da validade analítica, já que esta depende diretamente das características técnicas de cada teste. Entre as principais características técnicas que podem influenciar a validade analítica estão: características próprias do método escolhido para a realização do teste, incluindo suas especificações e limitações técnicas; a confiabilidade dos resultados obtidos pelo método escolhido; o grau de variação na confiabilidade a depender do laboratório onde se realiza o teste; o nível de complexidade da etapa de análise e interpretação dos resultados (2,4). Fica

claro, portanto, que a validade analítica depende dos aspectos relativos ao teste e não à doença. É importante lembrar que mesmo com todo o avanço científico e tecnológico dos últimos anos, os testes genéticos podem deixar de identificar alterações, seja por características inerentes à técnica ou por deficiências na interpretação do significado das alterações detectadas. Portanto, cuidado especial deve ser tomado na interpretação de testes com resultado negativo ou sem alterações detectadas (6).

Estratégias de Investigação Clínica

Com a evolução das técnicas para diagnóstico genético, é possível não só escolher a técnica mais indicada para a identificação de diferentes tipos de variações, como também a estratégia de investigação a ser adotada para cada situação clínica.

Em termos da escolha da técnica, sumariamente, podemos dizer que:

- i) Para a identificação de variantes de nucleotídeo único (“mutações pontuais”) ou pequenas inserções e deleções na sequência do DNA, utilizam-se mais frequentemente as técnicas moleculares de sequenciamento, porém em algumas situações especiais outros tipos de técnica também poderão ser utilizadas (6).
- ii) Para as anomalias cromossômicas cuja clínica sugira que o cariótipo convencional banda G tenha grau de resolução suficiente para diagnóstico, esse exame pode ser utilizado.
- iii) Para as alterações conhecidas como variações no número de cópias (CNVs), cujo grau de resolução do cariótipo não permite a detecção e que também são popularmente conhecidas como microdeleções ou microduplicações, utilizam-se mais frequentemente as técnicas de citogenética molecular (8).
- iv) Para detecção de expansões de repetição de nucleotídeos, podem ser usadas técnicas de PCR e eletroforese capilar, assim como Southern Blot.
- v) Para investigação de alterações de metilação podem ser utilizadas técnicas moleculares sensíveis a metilação.

Essas diferentes técnicas podem ser aplicadas a **i**) regiões genômicas limitadas, genes específicos ou um conjunto de genes previamente definido (painel); ou a **ii**) a grandes porções do genoma humano, como por exemplo a toda a região codificante (conjunto de éxons de todos os genes humanos), também conhecida como “exoma”; ou até mesmo ao genoma humano completo. Definem-se assim duas diferentes estratégias de investigação diagnóstica na prática clínica: **i**) uma mais limitada, em geral dirigida por sólida hipótese clínica, como a estratégia da investigação de gene(s) candidato(s) ou **ii**) estratégias sem hipótese prévia, também chamadas de estratégias genômicas de investigação (note-se aqui que a noção de que estratégias genômicas não dependem de hipótese prévia é relativa e não necessariamente correta). Incluem-se nessa última categoria o sequenciamento completo do exoma humano (“exoma”), o sequenciamento completo do genoma humano e a análise cromossômica por microarray. Se a escolha da técnica a ser utilizada depende do tipo de variação que se deseja investigar (alteração de sequência x alteração estrutural), a escolha da estratégia de investigação clínica (gene candidato x genômica) dependerá principalmente de características da doença em questão, custos e tempo envolvido na investigação (9).

Como já citado acima, **na estratégia de genes candidatos** a escolha do(s) gene(s) a que serão estudados será baseada no conhecimento já disponível a respeito da etiologia mais provável da doença em investigação. Fica claro, portanto, que a decisão de qual(ais) genes será(ão) testado(s), dependerá da investigação clínica feita previamente a solicitação do teste genético, a qual deverá orientar o(s) diagnóstico(s) mais provável(eis), assim como a lista de genes que serão testados. No caso de apenas um gene ter sido identificado como o responsável pela doença, e variantes de nucleotídeos únicas (“mutações de ponto”) ou pequenas inserções e deleções serem a causa mais comum (ex: fibrose cística=gene *CFTR*, 10), em geral é utilizado o sequenciamento específico do gene candidato único, ou alternativamente a pesquisa das mutações mais frequentes na população de origem do paciente, utilizando outras técnicas que identificam mutações específicas. (ex. PCR alelo específico, enzimas de restrição e outros, 11). Devido à presença de grande heterogeneidade alélica, como é o caso da fibrose cística, a pesquisa de mutações específicas poderá resultar em um número elevado de pacientes nos quais não se encontrará as mutações pesquisadas, diminuindo a sensibilidade, VPP e VPN do teste, em comparação ao sequenciamento completo do gene. Nesses casos, a tomada de decisão sobre o uso do sequenciamento completo do gene candidato ou o uso do teste específico da mutação deverá ser orientada pelas características específicas da epidemiologia genética da população (existe mesmo uma mutação ou um conjunto limitado de mutações mais frequentes?), disponibilidade do teste dentro da estrutura clínica de atendimento do paciente, existência de teste padrão já validado e aprovado para uso clínico (nesse caso recomenda-se que utilize-se na prática clínica o teste que foi validado e aprovado pelos órgãos competentes para uso clínico ao invés de “testes de pesquisa”), custos envolvidos no teste, tamanho da região a ser sequenciada, conhecimento científico disponível ou recomendação específica para a investigação molecular da doença ou até mesmo específica para a população investigada. Lembrando que em algumas situações, em virtude de características da doença ou do gene a ser pesquisado (ex: dificuldades técnicas no sequenciamento, alto custo e pequena chance de identificar variantes), recomenda-se a confirmação diagnóstica pelo uso de outros testes que não a pesquisa da variante ou o sequenciamento (ex: testes bioquímicos, histopatológicos, neurofisiológicos, etc.). É importante mencionar também que em algumas situações especiais a pesquisa de variação específica dentro do gene candidato é preferível ao invés do sequenciamento completo do gene candidato. Podemos citar como exemplo desse caso a doença de Huntington, na qual a determinação do tamanho da região polimórfica contendo o triplete CAG no gene *HD*, é a estratégia de escolha para o diagnóstico genético, devido à ausência de heterogeneidade alélica (12).

Nas situações nas quais mais de um gene candidato existe, presença de heterogeneidade não alélica ou heterogeneidade gênica de loci, a pesquisa seriada dos genes candidatos pode ser feita. O termo **painel de genes** começou a ser utilizado há mais de uma década nessas situações, quando vários genes candidatos seriam pesquisados, em geral por sequenciamento utilizando as técnicas clássicas de Sanger (7). Utilizando a técnica de Sanger vários experimentos são necessários (geralmente vários por gene sequenciado), levando a uma estratégia seriada de pesquisa (um após o outro). Dessa forma há vários anos já existem painéis de genes para várias doenças monogênicas com grande heterogeneidade de loci (ex: osteogênese imperfeita, síndrome de Noonan, paraparesias espásticas, entre outras, 13). Com essa estratégia seriada o médico poderia optar por realizar uma pesquisa hierarquizada dos genes candidatos, pesquisando-os por ordem de prioridade: os com maior probabilidade de

conterem variantes em primeiro lugar e somente passando para o próximo da lista se o anterior fosse negativo, reduzindo custos totais, já que se encerra a pesquisa dos vários genes assim que a variante é encontrada.

Porém, todo esse raciocínio de pesquisa seriada mudou drasticamente com a introdução nos últimos anos do sequenciamento de nova geração (do inglês *next-generation sequencing*, NGS, 14), quando a pesquisa de vários genes ao mesmo tempo, ou em um único experimento se tornou tecnicamente possível e com um custo relativamente menor que o anterior (15). Nesse sentido, o uso de painéis de genes sequenciados por NGS tomou grande impulso (16). Atualmente, vários painéis previamente selecionados estão disponíveis para uso na investigação de doenças. A principal vantagem desses painéis é a velocidade sequenciamento de vários genes simultaneamente, já que um único ensaio é realizado e o resultado para o conjunto de genes do painel é conhecido simultaneamente (15,16). Existe diversidade entre o conteúdo de genes nos painéis oferecidos para o mesmo grupo de doença oferecido pelos diversos laboratórios, por isso recomenda-se que o médico tenha certeza de que os genes que considera importantes, conforme sua suspeita clínica, estejam realmente contidos no painel solicitado. Importante nesse sentido ressaltar que nem sempre um painel com maior número de genes significa um painel mais resolutivo ou com maior aplicabilidade clínica. Nesse contexto, é importante salientar que a estratégia de sequenciamento do exoma humano é na verdade um “grande painel” no qual todos os éxons de todos os genes humanos anotados ou de importância clínica (chamado comumente “exoma clínico”) são sequenciados paralelamente em um único experimento (17).

Definições Gerais de Qualidade Independente da Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Os laboratórios que oferecem testes genéticos devem buscar acreditação externa para as técnicas que sejam específicas para os testes executados, como por exemplo CAP, EMQN, PALC e ISO.
 - Os exames terceirizados devem contemplar o nome do laboratório executor.
 - Caso o laboratório decida utilizar técnica diferente daquela solicitada pelo médico, a mesma deve ter validação publicada em periódico científico; além disso, o médico assistente deve ser informado previamente e no laudo deve constar tal informação de forma clara, salvo no caso de solicitação de CGH-Array e SNP-Array, que atualmente são considerados intercambiáveis, exceto quando justificado pelo solicitante.
 - Como boa prática do laboratório, durante o processo de análise, caso surjam dúvidas sobre os resultados ou urgências, uma pessoa técnica qualificada do laboratório deve entrar em contato com o médico assistente.
 - Os laboratórios devem disponibilizar contato de profissional técnico qualificado para solução de dúvidas caso o médico assistente deseje mais informações.

Definições Gerais de Laudo Independente da Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Os laudos dos testes devem estar conforme a RDC nº 302 de 2005, constando também de forma clara, concisa e completa os elementos abaixo:
 - Identificação do paciente, com no mínimo o nome completo, data do nascimento e sexo;
 - Identificação do médico solicitante;
 - Dados do laboratório, incluindo acreditação do mesmo;
 - Nome do teste realizado e o tipo de amostra em que foi realizado (ex.: sangue periférico, saliva, fibroblastos, etc);
 - Indicação clínica;
 - Resultado de forma clara e em destaque das demais informações do laudo;
 - Dados das variantes, para hibridação genômica comparativa e para sequenciamento;
 - Interpretação dos resultados;
 - Metodologia, incluindo informações sobre validação do teste;
 - Limitações do teste;
 - Referências;
 - Nome do responsável técnico.
 - Não conste valor de referência para MLPA, FISH e sequenciamento.
 - Não sejam utilizados os termos: Negativo/Ausente e Positivo/Presente, a não ser que seja solicitada pesquisa para mutação pontual específica [ex.: em caso de investigação para variante NM_000546 p.(Arg337His) no gene *TP53*, que não apresente a variante, o resultado pode ser relatado como negativo/ausente]. Nos demais casos, como painel ou EXOMA, utilizar como exemplo: “Não foram encontradas variantes patogênicas/provavelmente patogênicas”.
 - Resultados inconclusivos, nos quais se sugira complementação de técnica, as recomendações de condutas sugeridas em laudo devem estar devidamente referenciadas para consulta do médico solicitante.
 - Caso utilizada técnica ortogonal para avaliação ou confirmação, a mesma deve estar citada no laudo.
 - O termo de consentimento livre e esclarecido deve ser aplicado, de preferência, durante a avaliação pré-teste, e deve incluir escolhas como a avaliação de achados secundários.
 - Os resultados sejam, de preferência, disponibilizados antecipadamente para o médico assistente.

Cariótipo

Qualidade Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Qualidade Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas.
 - Seja analisado um número mínimo de 20 células para investigação pós-natal de anomalias cromossômicas.
 - Caso haja suspeita de mosaicismo, a contagem de células analisadas em uma investigação cromossômica pós-natal deve ser ampliada para um mínimo de 50 células.
 - A resolução deve ser de, no mínimo, 300 bandas para investigação de anomalias numéricas e 500 bandas para anomalias estruturais.

Laudo

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Laudo Independente da Técnica, descritas na página 12 sejam contempladas
 - A nomenclatura utilizada para o resultado siga as normas padronizadas pelo *International System for Human Cytogenomic Nomenclature*, na sua versão mais atualizada.
 - As fotos, em alta qualidade, devem ser disponibilizadas pelo laboratório, mediante solicitação do médico assistente.
 - Deve constar no laudo as informações abaixo:
 - Número de células contadas e analisadas
 - Resolução
 - Nomenclatura segundo as regras atualizadas do ISCN
 - Caso identificado polimorfismo populacional, descrever no laudo que é observado na população, com informações sobre o percentual da população que apresenta o polimorfismo.

MLPA

Qualidade Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Qualidade Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas
 - No caso de deleção em sonda única, confirmar por outra técnica, como qPCR ou microarray.

Laudo

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Laudo Independente da Técnica, descritas na página 12 sejam contempladas
 - Sejam informados:
 - o tipo de programa utilizado para análise
 - qual o kit utilizado com informações das referências. Caso essa informação esteja ausente, colocar quais as regiões e genes cobertos pelo kit para conhecimento do médico assistente.
 - a utilização de controles normais em cada reação
 - No caso de resultado inconclusivo, deixar claro a limitação técnica e sobre a possibilidade de realização de exame complementar para confirmação do achado.

FISH

Qualidade Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Qualidade Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas
 - Nos casos inconclusivos, sugerimos que uma pessoa tecnicamente qualificada do laboratório deve entrar em contato com o médico assistente, para orientar a respeito de limitação da técnica e necessidade de realizar outros exames complementares.

Laudos

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Laudo Independente da Técnica, descritas na página 12 sejam contempladas
 - Seja informado:
 - Número de células analisadas.
 - O kit utilizado se for utilizada sonda comercial, deve ser informada também a referência do kit. Na ausência dessa informação, colocar quais as regiões e genes cobertos no kit para ciência do médico assistente.
 - Uso de sondas controle, quando utilizada
 - Caso for utilizado sonda própria (*in house*), não comercial, colocar especificação técnica de quais regiões a sonda cobre.
 - Informar que, caso normal, deleções fora das regiões da sonda do FISH podem não ser detectadas na análise e, portanto, a realização de uma outra técnica complementar, como o MLPA, deve ser considerada.

Análise Cromossômica por *Microarray* (CGH-Array e SNP-Array)

Existem 3 tipos de plataforma de arrays: as de CGH-array; as de SNP-array e as que combinam ambas as técnicas.

- As plataformas de CGH-array (aCGH) utilizam a tecnologia da Hibridação Genômica Comparativa, consistem em lâminas com arranjos de oligonucleotídeos de diversos tamanhos distribuídos em áreas de interesse do genoma. São muito eficazes para detecção de alteração em número de cópias envolvendo diversos genes (CNV). Esta tecnologia não é capaz de detectar áreas de perda de heterozigiosidade ou dissomias uniparentais (UPD).
- As plataformas de SNP-array baseiam-se na genotipagem de polimorfismos de nucleotídeo único que possibilitam a detecção de CNV e regiões de perda de heterozigiosidade (LOH), que possibilita avaliação de UPD.
- As plataformas combinadas (aCGH+SNP), detectam CNV e possibilitam a avaliação de UPD.

O parecer a seguir se refere a ambas as plataformas.

Qualidade Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:

- Todas as orientações de Definição Geral de Qualidade Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas

- A resolução mínima para pacientes em investigação de rearranjos cromossômicos não-equilibrados submicroscópicos em amostras pré-natais deve ser de 400 a 600 kb, enquanto em amostras pós-natais de 200 a 400 kb. A resolução para investigação em casos de câncer deve ser de 400 a 600 kb.

- Sejam utilizadas resoluções mínimas de 180K (CGH-Array) ou 750K (SNP-Array)

- Independente da solicitação médica de técnica específica (CGH ou SNP), o exame realizado poderá ser de acordo com o disponível no laboratório, desde que a resolução mínima sugerida seja respeitada.

- A análise do exame deve contemplar buscas bases de dados de população normal (controles), tal como o DGV, e bancos de indivíduos afetados, tais como o DECIPHER, ClinGen, OMIM, ISCA.

- As variantes sejam classificadas em patogênicas, provavelmente patogênica, variante de significado incerto, provavelmente benigna e benigna seguindo os critérios do *guideline* do *American College of Medical Genetics*, proposto por Hutton M. Kearney e colaboradores em 2011, e mais recentemente pelo proposto por Beata Nowakowska, publicado em 2017 na *Human Genetics*. Caso o laboratório opte por outro critério de classificação, o mesmo deve estar justificado e detalhado no laudo final. Os critérios podem ser verificados resumidamente a seguir:

Classe I – Alterações benignas: comuns e encontradas em mais de 1% da população geral (controle interno e (ou) DGV).

Classe II – Provavelmente benignas: variantes raras, que não possuem genes em sua extensão, ou ainda que compreendam apenas regiões intrônicas. A CNV foi descrita em um pequeno número de casos ($\leq 1\%$) ou em um único estudo em bases de dados da população geral (controles internos, aDGV e DGV) e não é uma CNV comum*.

Classe III – Variante de significado clínico incerto: variantes raras, que não foram encontradas em controles (interno, aDGV e DGV) e que não foram encontradas anteriormente em outros pacientes com quadro clínico semelhante. Podem ser “*de novo*” ou herdadas. Incluem éxons de genes sem função definida, não relacionados a doenças ou não sensíveis a dosagem, e que não tem significado clínico conhecido.

Classe IV – Provavelmente patogênicas: variantes raras, que não foram encontradas em controles (interno, aDGV e DGV), com pontos de quebra que se sobrepõe parcialmente aos de outros indivíduos com fenótipo anormal, portadores do mesmo desequilíbrio, porém o gene ou região crítica ainda não foram identificados; variantes descritas previamente em apenas um indivíduo com o fenótipo similar; variantes que incluem éxons de genes comprovadamente relacionados a doenças e aos sinais clínicos do indivíduo em avaliação, e possuem padrão de herança compatível com o número de cópias e consequências patogênicas da mutação – ganho ou perda de função.

Classe V – Patogênicas: variantes documentadas e bem estabelecidas na literatura, como as síndromes de deleção e duplicação; descritas em dois ou mais casos registrados nos bancos de dados de indivíduos com descrições fenotípicas similares, correlação evidente entre o desequilíbrio genômico e o fenótipo do indivíduo em investigação. Em geral, alterações maiores que 3 a 5 Mb que incluem múltiplos genes, mesmo que não se enquadrem nos critérios acima, são patogênicas.

*Atenção às CNVs com penetrância incompleta/de susceptibilidade que estão presentes em ambas as bases (fenótipo anormal e controles) (exemplo 15q11 BP1 BP2; 15q13, 16p11.2, etc). Essas são exceções e podem ser descritas como classe III ou IV, conforme correlação genótipo-fenótipo.

Laudo

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Laudo Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas
 - O resultado deve ser apresentado utilizando a versão mais recente do ISCN, incluindo a coordenada genômica, o genoma de referência utilizado e a classificação de patogenicidade ACMG de forma clara.
 - Devem ser relatadas todas as variantes patogênicas, provavelmente patogênicas e variantes de significado clínico incerto.
 - Podem ser relatadas regiões de homozigose a partir de 1Mb.
 - Devem ser relatadas regiões de homozigose a partir de 5Mb.
 - As variantes benignas encontradas podem ser disponibilizadas caso solicitado pelo médico assistente.
 - No campo métodos, citar qual a resolução em (Kbs).
 - Na interpretação, devem ser explicitados os critérios de classificação de patogenicidade das variantes encontradas. Também recomendamos colocar as informações sobre o número de genes contidos no intervalo e ressaltar apenas os que possuem associação com o fenótipo clínico.
 - No campo sobre limitações técnicas, citar qual o tamanho de CNV mínimo reportado.

Sequenciamento Independente da Técnica

Laudo

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Sejam reportados os resultados das variantes encontradas, seguindo as seguintes normas:
 - Posição genômica e respectiva referência;
 - Posição no DNA codificante e proteína, considerando um transcrito de referência, usando preferencialmente a nomenclatura HGVS;
 - Zigosidade;
 - Nome oficial do gene conforme HGNC, doenças associadas (de acordo com o OMIM) e padrão de herança;
 - Classificação de patogenicidade de acordo com referência do ACMG 2015
 - No campo de interpretação:
 - Explicitar os critérios apresentados pela variante que sugerem a classificação atribuída a mesma;
 - Abordar sucintamente a questão do fenótipo associado a variante encontrada no paciente.
 - Sugerir avaliação de segregação, quando esta for importante para mudar a classificação de patogenicidade da variante;
 - Nos casos de variantes modificadoras de risco, deixar claro na interpretação que esta variante não estabelece o diagnóstico de doença monogênica.

Sequenciamento de Sanger

Qualidade Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Qualidade Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas
 - Um par de primers (forward e reverse) seja desenhado para cada produto de PCR de no máximo 600bp por limitações inerentes a técnica.
 - Os primers não sejam desenhados em regiões altamente polimórficas, por risco de não anelamento.
 - O arquivo resultante do sequenciamento de Sanger seja alinhado com a referência do RefSeq para detecção adequada das variantes.
 - Os picos encontrados no eletroferograma sejam homogêneos, altos e finos, sem presença de ruídos em excesso.

Laudo

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Laudo Independente da Técnica, descritas na página 12 sejam contempladas
 - A figura do eletroferograma mostrando a presença ou ausência da variante em ambas as fitas esteja disponível para o médico solicitante, seja no próprio laudo ou sob demanda do mesmo.
 - As limitações da técnica estejam presentes, como:
 - O possível efeito de alelo “drop-out” devido a possibilidade de polimorfismos na região dos primers e/ou presença de grandes deleções e inserções no gene;
 - A dificuldade de sequenciamento de região de homopolímeros.

Sequenciamento de Nova Geração

Qualidade Técnica

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:
 - Todas as orientações de Definição Geral de Qualidade Independente da Técnica, descritas na página 11 sejam contempladas
 - Em casos de uso de kits *in house*, as informações sobre a customização/validação do kit estejam disponíveis.
 - Os parâmetros de cobertura (horizontal) sugeridos como critério mínimo de qualidade, sejam:
 - Para EXOMA - acima de 95% das bases com pelo menos 10x, e em 80% das bases acima de 20x. O EXOMA é classificado em:
 - Painéis denominados como “EXOMA Clínico”: Deve ser composto por pelo menos 2.500 genes associados aos diferentes grupos de doenças e/ou síndromes genéticas;
 - EXOMA Completo: Deve ser composto por aproximadamente 20.000 genes.
 - Para Painel - acima de 98% das bases com pelo menos 10x para cada um dos genes principais (“core”) e a cobertura média do painel acima de 90% das bases com pelo menos 20x.
 - * A relação de genes principais (“core”) estão listados a partir da página 27.
 - ** Compreende-se que em algumas situações os parâmetros recomendados não podem ser alcançados, como por exemplo os genes que tenham regiões ricas em CG ou alta homologia com outras regiões genômicas, como *CYP21A2*, *PKD1* e *PMS2*. Para esses casos, o laboratório deverá informar qual foi a cobertura alcançada. Tais genes estão listados a partir da página 29.
- Para Sequenciamento de Gene Único - de 98% das bases com pelo menos 20x.
- São considerados genes principais em um painel aqueles presentes no *Gene Reviews* ou entidade de referência para doença em questão (ex.: painel para câncer de mama com o NCCN). Recomenda-se que a atualização dos genes principais presentes no painel deve ser anual e que a fonte de referência utilizada para elaboração do painel deve constar em laudo.
- Para melhor acurácia, as variantes reportadas no laudo sejam confirmadas por metodologia ortogonal. Caso não seja realizada a confirmação, é recomendado que o motivo esteja justificado em laudo.
- O laboratório mantenha banco de dados próprio sobre as variantes relatadas nos laudos, assim como sua classificação.

- As análises contemplem os bancos de dados recomendados pelo ACMG e, se disponível, banco de dados representativo da população de origem do paciente (população referência). Ademais, em caso de suspeita de doenças específicas informada pelo médico assistente, e caso existam, a busca em bancos de dados específicos da doença também deve ser realizada (ex.: para doenças neuromusculares, o uso do LOVD). Os bancos utilizados devem estar atualizados na versão do ano vigente, ou no máximo do ano anterior e devem estar descritos no laudo.

- Em relação à manutenção e reanálise dos dados, o laboratório armazene os dados brutos pelo período mínimo de 2 anos considerando o arquivo FASTQ ou equivalente e 5 anos para o VCF.

- A classificação das variantes siga o protocolo da *American Collage of Medical Genetics* (ACMG).

- O laboratório tenha, em sua equipe técnica, médico geneticista certificado por programa de treinamento (residência médica em Genética Médica reconhecida pelo MEC) ou titulação específica (título de especialista da Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica) para apoio à correlação clínica dos achados.

Laudo

- A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:

- Todas as orientações de Definição Geral de Laudo Independente da Técnica, descritas na página 12 sejam contempladas

- Constem as informações de kit de captura utilizado, quando aplicável e da plataforma de bioinformática utilizada.

- Conste a descrição das etapas da análise de bioinformática (*workflow*) utilizadas para a análise, incluindo o processo de filtragem das variantes, no laudo ou em ambiente virtual do laboratório com endereço eletrônico disponível no laudo.

- A classificação das variantes siga os critérios da ACMG*, em sua versão mais atualizada disponível.

- Nos casos da existência de haplótipos com relevância clínica, os mesmos sejam descritos.

- Sejam informados os padrões de qualidade do exame, de acordo com o proposto no item de Qualidade Técnica para Sequenciamento de Nova Geração (conforme página 20).

- Seja informado se foi realizada captura de genes, e em caso positivo qual a lista de genes ou kit utilizado.

- Que em caso de uso de captura de genes mais ampla do que a utilizada para análise (por exemplo um painel de bioinformática), essa informação conste de forma clara no laudo. – Ou seja, no laudo de um painel gênico deve ficar claro se “painel” se refere à captura de tais genes especificamente ou somente a um filtro na análise de bioinformática.

- Conste de forma clara, de qual maneira os dados brutos podem ser solicitados pelo paciente ou pelo médico assistente, com a permissão do paciente.

- Esteja descrita no laudo a política de reanálise dos laudos, quando essa existir. A reclassificação das variantes deve seguir o protocolo da ACMG.

- Para os exames que sejam realizados por técnica de captura ou *amplicon* esteja presente um campo abordando as limitações do exame, dentre as quais:

1. Não ser padrão ouro para análise de CNVs;
2. Não ser adequado para analisar alterações epigenéticas, expansões de nucleotídeos, regiões intrônicas profundas e regiões regulatórias dos genes nucleares;
3. Especificar se o DNA mitocondrial foi analisado ou não;
4. Necessitar de revisão dos resultados, devido a atualização do conhecimento médico e dos bancos de dados;
5. Não detectar variantes em regiões com baixa cobertura (exemplo: ricas em GC, regiões repetitivas e pseudogenes), informando técnicas complementares podem ser utilizadas para melhor avaliação dessas regiões;
6. O fato de um resultado negativo não excluir totalmente a hipótese clínica do médico solicitante.

*Nota: Sugerimos que a tradução dos termos ACMG siga a seguinte padronização:

- Pathogenic: Patogênica
- Likely Pathogenic: Provavelmente Patogênica
- Variant of Uncertain Significance: Variante de Significado Incerto
- Likely Benign: Provavelmente Benigna
- Benign: Benigna

Pontos específicos para Painel gênico por NGS:

A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:

- Sejam listados os genes analisados.
- Para painéis específicos, que apresentem outros protocolos de classificação (ex.:cardiogenética), pode ser usado protocolo específico, desde que baseado em evidência científica.

Pontos específicos para EXOMA:

A Sociedade Brasileira de Genética Médica e Genômica recomenda que:

- Caso o paciente tenha optado por receber informações sobre: achados secundários, variantes em heterozigose para doença recessiva (status de portador), farmacogenômica, entre outros, as mesmas devem constar no laudo.

Exemplos de Laudo de Sequenciamento Exômico ou Painel Multigênico

Diagnóstico de Laboratório Molecular ABC

Nome: EPSR; **Sexo:** Masculino; **DN:** 21/07/2017; **Tipo de Amostra:** Sangue periférico

Teste realizado: Sequenciamento de todos os éxons do genoma humano (Exoma Completo)

Indicação para o Teste: Atraso de desenvolvimento, fraqueza muscular, hipotonia, dificuldade de deglutição.

Resultado: Foram encontradas uma variante provavelmente patogênica em homozigose no gene *NEB* que podem justificar o quadro clínico do paciente.

Características das variantes encontradas:

Gene	Zigossidade	Coordenada Genômica (GRCh37)	c.DNA	Predição na proteína	Transcrito	Classificação (ACMG)
<i>NEB</i>	Homozigose	Chr2: 152348211	c.25241T>G	p.(Leu8414Ter)	NM_001271208.2	Patogênica

Interpretação: A variante c.25241T>G (p.Leu8414Ter) encontrada em homozigose no gene *NEB* apresenta frequência próxima de zero em bancos de dados controles como gnomAD. Além disso, ela introduz um códon de parada prematuro no RNA mensageiro do gene *NEB*, causando perda de função que é um mecanismo de patogênese da miopatia nemalínica. Diante disso, a variante é classificada como patogênica. Variantes patogênicas/provavelmente patogênicas em homozigose no gene *NEB* causam o quadro de miopatia nemalínica autossômica recessiva, que é compatível com o quadro clínico do paciente.

Métodos: DNA genômico foi extraído de amostra de sangue periférico do probando e seus pais e o kit X foi utilizado para captura das regiões exômicas dentro do genoma. Essas regiões foram sequenciadas na plataforma Y. Os dados brutos resultados do sequenciamento (FASTQ) foram alinhados ao genoma de referência (GRCh37) utilizando -se ABC; a posterior chamada de variantes e anotação foi feita através dos programas DEF e GHI, respectivamente. **Para os laboratórios que fazem confirmação ortogonal em todas variantes patogênicas:** Todas as variantes classificadas como patogênicas/provavelmente patogênicas foram confirmadas por técnica ortogonal de Sanger. **Para os laboratórios que não a fazem em todos os casos:** são confirmadas por Sanger apenas as variantes patogênicas/provavelmente patogênicas em que (completar...). No laudo final, são relatadas apenas as variantes patogênicas/provavelmente patogênicas e /ou de significado incerto que tenham relação com a clínica do paciente. Variantes patogênicas/provavelmente patogênicas presentes em genes de achados secundários ou que configurem status de portador só serão notificadas caso o paciente tenha consentido

Métricas de Qualidade:

A cobertura horizontal obtida nesse exame foi de 95% das regiões alvo do kit acima de 20X.

Limitações: a ausência de um resultado que justifique o quadro clínico do paciente não determina a exclusão diagnóstica da suspeita do médico. Algumas alterações genéticas como variações no número de cópias e expansões de triplete podem não ser detectadas por essa tecnologia. É possível também que a região em que exista a variante causadora de doença não tenha sido capturada por essa técnica (ex.: íntrons, regiões promotoras) e, portanto, não tenha sido detectada. Além disso, é possível que uma variação genética encontrada no paciente possa ainda não ter sido associada à patologia, por insuficiência do conhecimento científico médico atual. Nesse sentido, recomenda-se a revisão dos dados de sequenciamento anualmente, sendo a mesma realizada sob solicitação médica e (acrescentar brevemente a política do laboratório, incluindo o tempo de armazenamento de arquivos FASTQ e VCF).

Recomendações: Aconselhamento genético é recomendado para este indivíduo e sua família.

Referências:

Diagnóstico de Laboratório Molecular ABC

Nome: CAS; **Sexo:** Masculino; **DN:** 20/07/2014; **Tipo de Amostra:** Saliva.

Teste realizado: Painel Multigênico para Epilepsia

Indicação para o Teste: Criança com crises convulsivas focais.

Resultado: não foram encontradas variantes patogênicas que justifiquem o quadro clínico da paciente

Métodos: DNA genômico foi extraído de amostra de sangue periférico do probando e seus pais e o kit XXX foi utilizado para captura das regiões exômicas dentro do genoma. Essas regiões foram sequenciadas na plataforma YYY. Os dados brutos resultados do sequenciamento (FASTq) foram alinhados ao genoma de referência (GRCh37) utilizando -se ABC; a posterior chamada de variantes e anotação foi feita através dos programas DEF e GHI, respectivamente. Foi feita a análise das variantes presentes apenas nos genes constantes no painel (descritos abaixo), através de painel virtual de bioinformática..

Para os laboratórios que fazem confirmação ortogonal em todas variantes patogênicas: Todas as variantes classificadas como patogênicas/provavelmente patogênicas foram confirmadas por técnica ortogonal de Sanger. **Para os laboratórios que não fazem em todos os casos a confirmação com técnica ortogonal de Sanger:** são confirmadas por Sanger apenas as variantes patogênicas/provavelmente patogênicas em que

Métricas de Qualidade:

A cobertura horizontal obtida no painel foi de 95% das regiões alvo do kit acima de 20X.

A cobertura específica por genes do painel pode ser solicitada ao laboratório e/ou estará disponível no link:

Limitações: a ausência de um resultado que justifique o quadro clínico do paciente não determina a exclusão diagnóstica da suspeita do médico. Algumas alterações genéticas como variações no número de cópias podem não ser detectadas por essa tecnologia. É possível também que a região em que exista a variante causadora de doença não tenha sido capturada por essa técnica e, portanto, não tenha sido detectada ou esteja em outro gene não contido nesse painel. Além disso, é possível que uma variação genética encontrada no paciente possa ainda não ter sido associada à patologia, por insuficiência do conhecimento científico médico atual. Nesse sentido, recomenda-se a revisão dos dados de sequenciamento anualmente, sendo a mesma realizada sob solicitação médica e (acrescentar brevemente a política do laboratório, incluindo o tempo de armazenamento de arquivos FASTq e VCF).

Recomendações: Aconselhamento genético é recomendado para este indivíduo e sua família.

Genes analisados nesse painel:

Referências:

Considerações Finais

O presente documento é o resultado de um esforço conjunto de médicos geneticistas da Sociedade Brasileira de Genética Médica que atuam em diferentes setores com exames genéticos, em especial sequenciamentos de nova geração. O processo de criação do documento, suas revisões, consulta pública dentro da sociedade, revisão após consulta pública e elaboração final para essa versão que está sendo publicada levou cerca de 1 ano de trabalho. Vale ressaltar que esse trabalho não é estático, muito menos pétreo. Assim como o conhecimento científico e o avanço tecnológico, o tempo é uma variável fundamental que deve ser levada em consideração para que esse documento seja revisitado e revisado, criticado e aprimorado. O documento é, na visão do nosso grupo de trabalho e da nossa sociedade médica, uma forma de se posicionar com o único objetivo de garantir qualidade aos exames realizados no nosso país, e dessa forma ter a segurança de que a população que necessita de um exame genético possa realiza-lo com uma maior segurança e certeza quanto a qualidade do mesmo. Vale ressaltar que este documento não tem peso de lei, sendo um parecer do que propomos como o ideal a ser seguido pelos laboratórios, e cobrado pela sociedade civil e médica dos mesmos.

Agradecemos imensamente a todos os profissionais, em especial os biólogos, biomédicos e bioinformatas, que de uma maneira ou de outra contribuíram com o documento. Sabemos que esse trabalho é colaborativo e o conhecimento compartilhado por cada um foi fundamental para chegarmos nesse resultado.

O grupo de trabalho, a partir da publicação desse parecer, tem duas missões. A primeira é fortalecer este, com parcerias com outras sociedades que compartilhem interesse em relação aos exames genéticos. A segunda é começar a trabalhar no segundo volume do parecer, com informações do que são considerados preceitos éticos fundamentais sobre a forma mais adequada para que os laboratórios lidem com as informações geradas pelos exames genéticos, e com um parecer sobre os testes direto ao consumidor e de genética personalizada.

Esperamos que esse parecer tenha alcançado seu objetivo, e agradecemos pelo interesse e a leitura.

Lista de Genes Principais (“Core”)

*Lista de genes relevantes do ponto de vista clínico, em acordo com o GeneReviews.

AARS	COL7A1	GPC3	NF1	SHOX
ABCA12	COL9A1	GPC4	NF2	SIL1
ABCA4	COL9A2	GPD1L	NFIA	SIX1
ABCB7	COL9A3	GPHN	NGF	SIX3
ABCC6	COLQ	GPR101	NGLY1	SIX5
ABCC8	COMP	GPR143	NHLRC1	SKI
ABCC9	COQ2	GPSM2	NHP2	SKIV2L
ABCD1	COQ4	GRHL2	NHS	SLC12A5
ABCD4	COQ6	GRHPR	NIPA1	SLC12A6
ABCG5	COQ7	GRID2	NIPAL4	SLC16A2
ABCG8	COQ8A	GRIN1	NIPBL	SLC17A5
ACADM	COQ8B	GRIN2A	NKX2-1	SLC17A8
ACADS	COQ9	GRIN2B	NKX6-2	SLC19A2
ACADVL	COX10	GRN	NME8	SLC19A3
ACD	COX15	GRXCR1	NMNAT1	SLC1A3
ACO2	COX7B	GSDME	NODAL	SLC20A2
ACOX1	CP	GUCA1B	NOP10	SLC22A5
ACTA1	CPA1	GUCY2D	NOP56	SLC25A1
ACTA2	CPLANE1	H19	NOTCH1	SLC25A13
ACTB	CPOX	HADH	NOTCH2	SLC25A15
ACTC1	CPS1	HAMP	NOTCH3	SLC25A19
ACTG1	CPT1A	HARS2	NPC1	SLC25A46
ACTG2	CPT1C	HBA1	NPC2	SLC26A2
ACTN2	CPT2	HBA2	NPHP1	SLC26A4
ACVRL1	CRB1	HBB	NPHP3	SLC26A5
ADA	CREBBP	HBZ	NPHP4	SLC27A4
ADAMTS10	CRH	HCCS	NR0B1	SLC2A1
ADAMTSL2	CRLF1	HCFC1	NR2E3	SLC2A10
ADAMTSL4	CRX	HCN4	NR2F2	SLC30A10
ADAR	CRYBA4	HDAC8	NR5A1	SLC33A1
ADCY5	CSF1R	HEPACAM	NRAS	SLC35A1
ADGRA3	CSPP1	HES7	NRL	SLC35A2
ADGRV1	CSRP3	HESX1	NRTN	SLC35C1
ADNP	CSTB	HEXA	NSD1	SLC37A4
AFG3L2	CTC1	HFE	NSDHL	SLC45A2
AGBL5	CTDP1	HGD	NSMF	SLC46A1
AGL	CTNS	HGF	NT5C2	SLC52A2
AGPAT2	CTRC	HGSNAT	NTRK1	SLC52A3
AGRN	CTSD	HJV	NYX	SLC5A7
AGXT	CTSF	HK1	OBSCN	SLC6A19
AHI1	CUL3	HLA-DQA1	OBSL1	SLC6A3

AIFM1	CUL7	HLA-DQB1	OCA2	SLC6A5
AIP	CWF19L1	HMBS	OCRL	SLC6A8
AIPL1	CYBA	HNF1A	OFD1	SLC6A9
AKAP9	CYBB	HNF1B	OPA1	SLC7A14
AKT1	CYP1B1	HNF4A	OPA3	SLC7A7
AKT3	CYP21A2	HNRNPK	OPHN1	SLC9A1
ALAS2	CYP27A1	HOGA1	OPTN	SLC9A6
ALDH18A1	CYP2U1	HOXA13	OTC	SLCO1B1
ALDH3A2	CYP4F22	HPRT1	OTOA	SLCO1B3
ALDH5A1	CYP4V2	HPS1	OTOF	SLITRK6
ALDH7A1	CYP7B1	HPS3	OTX2	SLMAP
ALDOB	D2HGDH	HPS4	P2RX2	SLX4
ALG1	DAB1	HPS5	PABPN1	SMAD2
ALG11	DARS2	HPS6	PAFAH1B1	SMAD3
ALG12	DBH	HPSE2	PAH	SMAD4
ALG13	DBT	HRAS	PALB2	SMAD9
ALG14	DCAF17	HS6ST1	PANK2	SMARCA2
ALG2	DCC	HSD17B4	PARK7	SMARCA4
ALG3	DCDC2	HSPB1	PARN	SMARCAL1
ALG6	DCN	HSPB8	PAX2	SMARCB1
ALG8	DCTN1	HSPD1	PAX3	SMARCE1
ALG9	DCX	HTRA1	PAX4	SMC1A
ALK	DDB2	HTT	PAX6	SMC3
ALMS1	DDHD1	HYDIN	PC	SMCHD1
ALOX12B	DDHD2	HYMAI	PCARE	SMN1
ALOXE3	DDOST	IBA57	PCCA	SMN2
ALPK3	DDX11	IDH3B	PCCB	SMOC1
ALPL	DEPDC5	IDS	PCDH12	SMPD1
ALS2	DES	IDUA	PCDH15	SMPX
ALX4	DGKE	IFIH1	PCSK9	SMS
AMPD2	DGUOK	IFT122	PDCD10	SNAP25
AMT	DHCR7	IFT140	PDE6A	SNCA
ANG	DHDDS	IFT172	PDE6B	SNRNP200
ANK2	DHH	IFT27	PDE6C	SNTA1
ANKH	DHX38	IFT43	PDE6D	SNX14
ANKRD1	DIAPH1	IFT80	PDE6G	SNX4
ANKRD11	DICER1	IGF2	PDE6H	SOD1
ANKRD26	DIS3L2	IGHMBP2	PDGFB	SOS1
ANKS6	DISP1	IKBKG	PDGFRB	SOST
ANO5	DKC1	IL17RD	PDK3	SOX10
ANOS1	DLD	IL1RAPL1	PDLIM3	SOX11
ANTXR2	DLL1	IL2RG	PDSS1	SOX2
AP3B1	DLL3	IMPDH1	PDSS2	SOX9
AP3D1	DLL4	IMPG2	PDX1	SP110
AP4B1	DMD	INPP5E	PDYN	SPAG1
AP4E1	DMPK	INS	PEPD	SPART

AP4M1	DMRT1	INSR	PET100	SPAST
AP4S1	DNAAF1	INVS	PEX1	SPATA7
AP5Z1	DNAAF2	IQCB1	PEX10	SPG11
APC	DNAAF3	IRF6	PEX11B	SPG21
APOB	DNAAF4	ISCA2	PEX12	SPG7
APOE	DNAAF5	ISCU	PEX13	SPINK1
APP	DNAH1	ITGA6	PEX14	SPP2
APPL1	DNAH11	ITGB4	PEX16	SPR
APRT	DNAH5	ITPR1	PEX19	SPRED1
APTX	DNAH8	JAG1	PEX2	SPRY4
AQP2	DNAI1	JPH2	PEX26	SPTBN2
AR	DNAI2	JPH3	PEX3	SPTLC1
ARG1	DNAJB11	JUP	PEX5	SQSTM1
ARHGAP31	DNAJB2	KANSL1	PEX6	SRA1
ARHGEF9	DNAJC21	KAT6B	PEX7	SRCAP
ARID1A	DNAJC5	KBTBD13	PGAP1	SRD5A3
ARID1B	DNAL1	KCNA1	PGM1	SRP54
ARL13B	DNM2	KCNC3	PGM3	SRY
ARL2BP	DNMT1	KCND2	PHEX	SSR4
ARL3	DOCK6	KCND3	PHKA1	STAC3
ARL6	DOK7	KCNE1	PHKA2	STAMPB
ARMC4	DOLK	KCNE2	PHKB	STAT3
ARSA	DPAGT1	KCNE3	PHKG2	STK11
ARSE	DPM1	KCNE5	PHOX2A	STRA6
ASAH1	DPM2	KCNH2	PHOX2B	STRC
ASL	DPM3	KCNJ10	PHYH	STT3A
ASNS	DRC1	KCNJ11	PIGN	STT3B
ASPA	DSC2	KCNJ13	PIK3CA	STX11
ASS1	DSG2	KCNJ2	PIK3R1	STX16
ASXL1	DSP	KCNJ5	PIK3R2	STXBP1
ATAD3A	DSPP	KCNJ8	PINK1	STXBP2
ATF6	DTHD1	KCNK3	PJVK	SUCLA2
ATL1	DTNBP1	KCNK9	PKD1	SUCLG1
ATM	DUSP6	KCNQ1	PKD2	SUFU
ATN1	DUX4L1	KCNQ10T1	PKHD1	SUMF1
ATP13A2	DVL1	KCNQ2	PKP2	SUOX
ATP1A2	DVL3	KCNQ3	PLA2G6	SURF1
ATP1A3	DYNC1H1	KCNQ4	PLAGL1	SYNE1
ATP2B3	DYRK1A	KCNT1	PLEC	SYNE4
ATP2B4	DYSF	KCTD7	PLN	SYNGAP1
ATP6V0A2	EARS2	KDM6A	PLOD1	SYT2
ATP7A	EBP	KIAA0556	PLP1	TAC3
ATP7B	ECE1	KIAA0586	PMM2	TACO1
ATP8B1	ECHS1	KIAA1549	PMP2	TACR3
ATRX	ECM1	KIF1A	PMP22	TAF1
ATXN1	EDA	KIF1B	PMS2	TANGO2

ATXN10	EDAR	KIF1BP	PNKD	TARDBP
ATXN2	EDARADD	KIF1C	PNKP	TAZ
ATXN3	EDN3	KIF21A	PNPLA1	TBC1D20
ATXN7	EDNRB	KIF5A	PNPLA6	TBC1D24
ATXN8	EED	KIF7	POC1B	TBP
ATXN8OS	EEF2	KISS1	POGZ	TBX1
AVPR2	EFEMP2	KISS1R	POLG	TBX5
AXL	EFL1	KIZ	POLH	TBX6
B3GLCT	EFNB1	KL	POLR1C	TCAP
B4GALNT1	EFTUD2	KLC2	POLR1D	TCF4
B4GALT1	EGR2	KLC4	POLR3A	TCOF1
B9D1	EHMT1	KLF10	POLR3B	TCTN1
B9D2	EIF2B1	KLF11	POMC	TCTN2
BAG3	EIF2B2	KLF13	POMGNT1	TCTN3
BAP1	EIF2B3	KLHL3	POR	TDGF1
BBIP1	EIF2B4	KLHL40	PORCN	TDP2
BBS1	EIF2B5	KLHL41	POU3F4	TECPR2
BBS10	ELANE	KLHL7	POU4F3	TECTA
BBS12	ELN	KMT2B	PPOX	TEK
BBS2	ELOVL4	KMT2D	PPP2R2B	TERC
BBS4	ELOVL5	KRAS	PPP2R5D	TERT
BBS5	ELP1	KRIT1	PPT1	TFAP2A
BBS7	EMC1	KRT14	PRCD	TFAP2B
BBS9	EMD	KRT16	PRDM12	TFG
BCKDHA	ENG	KRT17	PREPL	TFR2
BCKDHB	ENPP1	KRT5	PRF1	TGFB1
BCOR	ENTPD1	KRT6A	PRICKLE1	TGFB2
BCS1L	EOGT	KRT6B	PRKAR1A	TGFB3
BDNF	EP300	KRT6C	PRKCG	TGFBR1
BEAN1	EPB42	L1CAM	PRKG1	TGFBR2
BEST1	EPCAM	L2HGDH	PRKN	TGIF1
BGN	EPM2A	LAMA1	PRNP	TGM1
BICD2	EPOR	LAMA2	PROK2	TGM5
BLK	ERAL1	LAMA3	PROKR2	TGM6
BLM	ERCC1	LAMB2	PROM1	TH
BLOC1S3	ERCC2	LAMB3	PROP1	THAP1
BLOC1S6	ERCC3	LAMC2	PRPF3	THAP11
BMP4	ERCC4	LARS2	PRPF31	THBD
BMPR1A	ERCC5	LCA5	PRPF6	TIMM8A
BMPR1B	ERCC6	LDB3	PRPF8	TINF2
BMPR2	ERCC8	LDLR	PRPH2	TJP2
BRAF	ERLIN1	LFNG	PRPS1	TK2
BRCA1	ERLIN2	LGI1	PRRT2	TMC1
BRCA2	ESCO2	LHFPL5	PRSS1	TMEM107
BRIP1	ESPN	LIPA	PRX	TMEM127
BSCL2	ESRRB	LIPN	PSAP	TMEM138

BSND	ETHE1	LITAF	PSEN1	TMEM165
BTD	EVC	LMBRD1	PSEN2	TMEM216
BTK	EVC2	LMNA	PTCH1	TMEM231
C12orf65	EXOSC3	LMNB1	PTEN	TMEM237
C15orf41	EXPH5	LMOD3	PTPN11	TMEM240
C19orf12	EXT1	LMX1B	PTPRQ	TMEM43
C2CD3	EXT2	LOX	PURA	TMEM67
C3	EYA1	LOXHD1	PXDN	TMIE
C8orf37	EYA4	LPIN2	PYGL	TMPO
C9orf72	EYS	LPL	PYGM	TMPRSS3
CA4	EZH2	LRAT	RAB18	TNNC1
CA5A	F2	LRIG2	RAB39B	TNNI3
CABP4	F5	LRP2	RAB3GAP1	TNNT1
CACNA1A	F8	LRP4	RAB3GAP2	TNNT2
CACNA1C	F9	LRP5	RAB7A	TOPORS
CACNA1F	FA2H	LRPPRC	RAD21	TOR1A
CACNA1S	FAH	LRRC6	RAD51	TP53
CACNA2D1	FAM111B	LRRK2	RAD51C	TP63
CACNB2	FAM126A	LRSAM1	RAF1	TPM1
CACNB4	FAM161A	LRTOMT	RAI1	TPM2
CALM1	FAM189A2	LTBP2	RANBP2	TPM3
CALM2	FANCA	LTBP3	RANGRF	TPP1
CALR3	FANCB	LTBP4	RAPSN	TPRN
CAPN1	FANCC	LYST	RARB	TRAPPC2
CAPN3	FANCD2	LZTFL1	RASA1	TRDN
CASK	FANCE	LZTR1	RAX	TREM2
CASP10	FANCF	MAD2L2	RB1	TREX1
CASP14	FANCG	MAGT1	RBM20	TRIM32
CASQ2	FANCI	MAK	RBM8A	TRIM63
CASR	FANCL	MAN1B1	RBP3	TRIO
CATSPER1	FANCM	MAN2B1	RBPJ	TRIOBP
CATSPER2	FARS2	MAP2K1	RD3	TRNT1
CAV1	FAS	MAP2K2	RDH12	TRPM4
CAV3	FASLG	MAP3K1	RDX	TRPS1
CBS	FBLN5	MARS	RECQL4	TRPV4
CC2D2A	FBN1	MARVELD2	REEP1	TSC1
CCDC103	FBN2	MAT2A	REEP2	TSC2
CCDC114	FBXL4	MATN3	RELN	TSEN54
CCDC141	FBXO7	MAX	REN	TSFM
CCDC151	FECH	MBD5	RERE	TSPAN12
CCDC39	FERMT1	MCEE	RET	TSR2
CCDC40	FEZF1	MCIDAS	RETREG1	TTBK2
CCDC50	FGD4	MCOLN1	RFC1	TTC19
CCDC65	FGF12	MECP2	RFT1	TTC21B
CCDC8	FGF14	MECR	RFWD3	TTC37
CCDC88C	FGF17	MED12	RGR	TTC8

CCM2	FGF23	MED25	RHO	TTN
CCN6	FGF3	MEFV	RIPPLY2	TTPA
CCND2	FGF8	MEN1	RIT1	TTR
CCNO	FGFR1	MERTK	RLBP1	TUBA1A
CD40LG	FGFR2	MESP2	RLIM	TUBA8
CD46	FGFR3	MFAP5	RMRP	TUBB
CDAN1	FH	MFN2	RNASEH2A	TUBB2A
CDC73	FHL1	MFSD8	RNASEH2B	TUBB2B
CDH1	FIG4	MGAT2	RNASEH2C	TUBB3
CDH23	FKBP14	MICAL1	RNASET2	TUBB4A
CDK13	FKTN	MID1	RNF216	TUBG1
CDKN1C	FLCN	MIR96	ROM1	TULP1
CDON	FLNA	MKKS	ROR2	TUSC3
CEBPA	FLNB	MKS1	RP1	TWIST1
CEL	FLRT3	MLC1	RP2	TWNK
CEP104	FLT4	MLH1	RP9	TXNL4A
CEP120	FMO3	MMAA	RPE65	TYMP
CEP164	FMR1	MMAB	RPGR	TYR
CEP290	FOXC2	MMACHC	RPGRIP1	TYROBP
CEP41	FOXE3	MMADHC	RPGRIP1L	UBA1
CEP83	FOXH1	MMP2	RPL11	UBE2T
CERKL	FOXI1	MMUT	RPL15	UBE3A
CERS3	FOXL2	MOGS	RPL18	UBE3B
CFAP298	FOXP2	MPDU1	RPL26	UBQLN2
CFB	FOXP3	MPI	RPL27	UBR1
CFH	FOXRED1	MPV17	RPL31	UCP2
CFHR1	FRAS1	MPZ	RPL35	UMOD
CFHR3	FREM1	MSH2	RPL35A	UNC13D
CFHR4	FREM2	MSH6	RPL5	UNC80
CFHR5	FRMD7	MSX2	RPS10	UQCRCQ
CFI	FSCN2	MT-ATP6	RPS15A	UROD
CFL2	FTL	MTCL1	RPS17	UROS
CFTR	FUCA1	MT-CO1	RPS19	USB1
CHAT	FUS	MT-CO2	RPS24	USH1C
CHCHD10	FXN	MT-CO3	RPS26	USH1G
CHD2	FZD4	MT-CYB	RPS27	USH1H
CHD7	G6PC	MTFMT	RPS28	USH2A
CHM	G6PC3	MTM1	RPS29	USP8
CHMP2B	GAA	MTMR2	RPS6KA3	USP9Y
CHN1	GAD1	MTR	RPS7	VAMP1
CHRNA1	GALC	MTRR	RRM2B	VAPB
CHRNA2	GALE	MTPP	RS1	VCAN
CHRNA4	GALNS	MUC1	RSPH1	VCL
CHRNA7	GALNT3	MUSK	RSPH3	VCP
CHRN1	GALT	MUTYH	RSPH4A	VHL
CHRN2	GAMT	MVK	RSPH9	VLDLR

CHRND	GAN	MYBPC3	RTEL1	VPS13A
CHRNE	GANAB	MYCN	RTN2	VPS13B
CHST3	GARS	MYH11	RUNX2	VPS13D
CIB2	GAS1	MYH14	RYR1	VPS35
CLCF1	GATA1	MYH6	RYR2	VPS37A
CLCN1	GATA4	MYH7	SACS	VSX2
CLCN2	GATA6	MYH9	SAG	VWA3B
CLCN5	GATM	MYL2	SALL1	VWF
CLCN7	GBA	MYL3	SALL4	WAC
CLDN14	GBA2	MYLK	SAMD9L	WAS
CLDN2	GBE1	MYLK2	SAMHD1	WASHC5
CLIC2	GCDH	MYO15A	SATB2	WDPCP
CLN3	GCH1	MYO1A	SBDS	WDR11
CLN5	GCK	MYO3A	SBF2	WDR19
CLN6	GDAP1	MYO6	SCARB2	WDR26
CLN8	GDAP2	MYO7A	SCN10A	WDR35
CLPB	GDF2	MYO9A	SCN11A	WDR45
CLPP	GDF6	MYOM1	SCN1A	WDR48
CLRN1	GDNF	MYO22	SCN1B	WDR73
CLTCL1	GFAP	MYPN	SCN2B	WFS1
CLUAP1	GFPT1	MYRF	SCN3B	WHRN
CNBP	GGT1	NAA10	SCN4A	WNK1
CNGA1	GJA1	NAGS	SCN4B	WNK4
CNGA3	GJA5	NBN	SCN5A	WNT10A
CNGB1	GJA8	NCF1	SCN8A	WNT5A
CNGB3	GJB1	NCF2	SCN9A	WRAP53
COASY	GJB2	NCF4	SCO2	WRN
COCH	GJB3	NDP	SCP2	WT1
COG1	GJB6	NDRG1	SDCCAG8	XIAP
COG2	GJC2	NDUFA1	SDHA	XK
COG4	GK	NDUFA10	SDHAF2	XPA
COG5	GLA	NDUFA12	SDHB	XPC
COG6	GLB1	NDUFA2	SDHC	XPR1
COG7	GLDC	NDUFA4	SDHD	XRCC2
COG8	GLI2	NDUFA9	SDR9C7	YARS
COL11A1	GLI3	NDUFAF2	SEMA3A	YY1
COL11A2	GLIS2	NDUFAF5	SEMA3E	ZAP70
COL13A1	GLRA1	NDUFAF6	SEMA4A	ZEB2
COL17A1	GLRB	NDUFB11	SEPTIN9	ZFP57
COL1A1	GLUD1	NDUFS1	SERAC1	ZFPM2
COL1A2	GM2A	NDUFS2	SERPINA1	ZFYVE26
COL2A1	GMPPA	NDUFS3	SERPINE1	ZFYVE27
COL3A1	GMPPB	NDUFS4	SETX	ZIC2
COL4A1	GNAL	NDUFS7	SFTPA2	ZMYND10
COL4A3	GNAS	NDUFS8	SFTPC	ZNF143
COL4A4	GNAT2	NDUFV1	SGCD	ZNF408

COL4A5	GNB4	NEB	SGCE	ZNF423
COL5A1	GNE	NEFL	SH2D1A	ZNF513
COL5A2	GNPTAB	NEK2	SH3BP2	
COL6A1	GNPTG	NEK8	SH3TC2	
COL6A2	GNRH1	NEUROD1	SHANK3	
COL6A3	GNRHR	NEXN	SHH	



Referências

1. Ottman R, Hirose S, Jain S, Lerche H, Lopes-Cendes I, Noebels JL, Serratosa J, Zara F, Scheffer IE. Genetic testing in the epilepsies--report of the ILAE Genetics Commission. *Epilepsia*. 2010 Apr;51(4):655-70.
2. Holtzman, NA.; Watson, MS. Final report of the Task Force on Genetic Testing. Baltimore: Johns. Hopkins University Press; 1999.
3. Burke W. Genetic tests: clinical validity and clinical utility. *Curr Protoc Hum Genet*. 2014 Apr 24;81:9.15.1-8.
4. Burke W, Austin MA. Genetic risk in context: Calculating the penetrance of BRCA1 and BRCA2 mutations. *J. Natl. Cancer Inst*. 2002; 94:1185–1187.
5. Phelan JC. Geneticization of deviant behavior and consequences for stigma: the case of mental illness. *J Health Soc Behav*. 2005 Dec;46(4):307-22.
6. Linnet K, Bossuyt PMM, Moons KGM, and Reitsma JB. Quantifying the Accuracy of a Diagnostic Test or Marker. *Clinical Chemistry* 2012; 58:9. 1292–1301.
7. Rehm HL. Disease-targeted sequencing: a cornerstone in the clinic. *Nat Rev Genet*. 2013 Apr;14(4):295-300.
8. Manning M, Hudgins L; Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med*. 2010 Nov;12(11):742-5.
9. Korf BR, Rehm HL. New approaches to molecular diagnosis. *JAMA*. 2013 Apr 10;309(14):1511-21.
10. Brennan ML, Schrijver I. Cystic Fibrosis: A Review of Associated Phenotypes, Use of Molecular Diagnostic Approaches, Genetic Characteristics, Progress, and Dilemmas. *J Mol Diagn*. 2016 Jan;18(1):3-14.
11. Davies KE. The application of DNA recombinant technology to the analysis of the human genome and genetic disease. *Hum Genet*. 1981;58(4):351-7.
12. Craufurd D, MacLeod R, Frontali M, Quarrell O, Bijlsma EK, Davis M, Hjerminde LE, Lahiri N, Mandich P, Martinez A, Tibben A, Roos RA; Working Group on Genetic Counselling and Testing of the European Huntington's Disease Network (EHDN). Diagnostic genetic testing for Huntington's disease. *Pract Neurol*. 2015 Feb;15(1):80-4.
13. Németh AH, Kwasniewska AC, Lise S, Schneckenberg RP, Becker EBE, Bera KD, Shanks ME, Gregory L, Buck D, Cader MZ, Talbot K, de Silva R, Fletcher N, Hastings R, Jayawant S, Morrison PJ, Worth P, Taylor M, Tolmie J, O'Regan M, UK Ataxia Consortium, Valentine R, Packham E, Evans J, Seller A, Ragoussis J. Next generation sequencing for molecular diagnosis of neurological disorders using ataxias as a model. *Brain*. 2013 October; 136(10): 3106–3118.
14. Soon WW, Hariharan M, Snyder MP. High-throughput sequencing for biology and medicine. *Mol Syst Biol*. 2013; 9: 640. .
15. Anderson MW, Schrijver I. Next Generation DNA Sequencing and the Future of Genomic Medicine. *Genes (Basel)* 2010 June; 1(1): 38–69.
16. Liu Y, Wei X, Kong X, Guo X, Sun Y, Man J, Du L, Zhu H, Qu Z, Tian P, Mao B, Yang Y. Targeted Next-Generation Sequencing for Clinical Diagnosis of 561 Mendelian Diseases. *PLoS One*. 2015 Aug 14;10(8):e0133636. doi: 10.1371/journal.pone.0133636.

eCollection 2015. Erratum in: PLoS One. 2015;10(9):e0139258. PLoS One. 2016;11(1):e0148154.

17. Majewski J, Schwartzenuber J, Lalonde E, Montpetit A, Jabado N. What can exome sequencing do for you? *J Med Genet*. 2011 Sep;48(9):580–9.

18. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology.

19. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST; Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*. 2011 Jul;13(7):680-5

20. Vermeesch JR, Brady PD, Sanlaville D, Kok K, Hastings RJ. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Hum Mutat*. 2012 Jun;33(6):906-15.

21. Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, Rack K, Hastings R. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet*. 2019 Jan;27(1):1-16.

22. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, Ketterling RP, Olson SB, Quigley DI, Rao KW, Tepperberg JH, Tsuchiya KD, Wiktor AE; Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. *Genet Med*. 2011 Jul;13(7):667-75.

23. Hook EB. Exclusion of chromosomal mosaicism: tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use

24. Ellard, S., Charlton, R.S., Yau, S.C., Gokhale, D.R., Taylor, G.R., Wallace, A.B., Ramsden, S.C., & Berry, I. (2009). Practice guidelines for Sanger Sequencing Analysis and Interpretation.

25. Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>