# INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

# Indice di sezione

5.1 Fase di Pre Check-in       2         5.2 Fase di Check-in       3         5.3 Fase di Post Check-in       4         LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA       5         5.4 Fase di Pre Check-in       5         5.4.1 Campioni Istologici       5         5.4.2 Campioni Citologici (liquidi corporei)       5         5.4.3 Precauzioni       5         5.5 Fase di Check-in       6         5.6 Fase di Post Check-in       6         5.6.1 Campioni istologici       6         5.6.2 Campioni citologici       6         LABORATORIO DI GENETICA MEDICA       7         5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale       7         5.7.1 Indicazioni al prelievo       7	LABORAT	FORIO CLINICO GENERALE	2
5.3 Fase di Post Check-in       4         LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA       5         5.4 Fase di Pre Check-in       5         5.4.1 Campioni Istologici       5         5.4.2 Campioni Citologici (liquidi corporei)       5         5.4.3 Precauzioni       5         5.5 Fase di Check-in       6         5.6 Fase di Post Check-in       6         5.6.1 Campioni istologici       6         5.6.2 Campioni citologici       6         LABORATORIO DI GENETICA MEDICA       7         5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale       7	5.1 Fa	se di Pre Check-in	2
LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA.       5         5.4 Fase di Pre Check-in.       5         5.4.1 Campioni Istologici.       5         5.4.2 Campioni Citologici (liquidi corporei).       5         5.4.3 Precauzioni.       5         5.5 Fase di Check-in.       6         5.6 Fase di Post Check-in.       6         5.6.1 Campioni istologici.       6         5.6.2 Campioni citologici.       6         LABORATORIO DI GENETICA MEDICA.       7         5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale.       7	5.2 Fa	se di Check-in	3
5.4       Fase di Pre Check-in       5         5.4.1       Campioni Istologici       5         5.4.2       Campioni Citologici (liquidi corporei)       5         5.4.3       Precauzioni       5         5.5       Fase di Check-in       6         5.6       Fase di Post Check-in       6         5.6.1       Campioni istologici       6         5.6.2       Campioni citologici       6         LABORATORIO DI GENETICA MEDICA       7         5.7       Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale       7	5.3 Fa	se di Post Check-in	4
5.4.1 Campioni Istologici	LABORAT	TORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA	5
5.4.2 Campioni Citologici (liquidi corporei) 5.4.3 Precauzioni 5.5 Fase di Check-in 6.5.6 Fase di Post Check-in 6.5.6.1 Campioni istologici 6.5.6.2 Campioni citologici 6.5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale 7	5.4	Fase di Pre Check-in	5
5.4.3 Precauzioni       5         5.5 Fase di Check-in       6         5.6 Fase di Post Check-in       6         5.6.1 Campioni istologici       6         5.6.2 Campioni citologici       6         LABORATORIO DI GENETICA MEDICA       7         5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale       7	5.4.1	Campioni Istologici	5
5.5 Fase di Check-in	5.4.2	Campioni Citologici (liquidi corporei)	5
5.6 Fase di Post Check-in	5.4.3	Precauzioni	5
5.6.1 Campioni istologici 6 5.6.2 Campioni citologici 6 LABORATORIO DI GENETICA MEDICA 7 5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale 7	5.5	Fase di Check-in	6
5.6.2 Campioni citologici	5.6	Fase di Post Check-in	6
LABORATORIO DI GENETICA MEDICA	5.6.1	Campioni istologici	6
5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale	5.6.2	Campioni citologici	6
	LABORAT	FORIO DI GENETICA MEDICA	7
5.7.1 Indicazioni al prelievo	5.7	Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale	7
	5.7.1	Indicazioni al prelievo	7



### INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

Vengono suggerite alcune raccomandazioni generali di trattamento dei campioni biologici da tener presente durante le tre fasi del processo preanalitico:

- 1) la fase di pre CHECK-IN
- 2) la fase di CHECK-IN
- 3) la fase di post CHECK-IN

### LABORATORIO CLINICO GENERALE

### 5.1 Fase di Pre Check-in

		Indicazioni generali
Siero	✓	La coagulazione spontanea che normalmente avviene dai 30 ai 60 minuti può essere accelerata
		da 15 a 30 minuti attraverso l'utilizzo di provette contenenti attivatori/acceleratori del processo
		coagulativo (es. provette con tappo marrone)
	<b>✓</b>	E' importante rispettare il tempo di coagulazione per evitare la presenza di fibrina che è causa di
		inconvenienti strumentali
Plasma ✓ Viene raccolto con l'intervento di anticoagulanti		
	<b>√</b>	I campioni di plasma dopo la raccolta devono essere centrifugati il più presto possibile
Campioni ✓ La refrigerazione inibisce il metabolismo dell		La refrigerazione inibisce il metabolismo delle cellule del sangue e stabilizza alcuni costituenti
refrigerati		termolabili
	✓	La refrigerazione di sangue intero oltre le 2 ore è controindicata per il potassio, perché il freddo
		bloccando la glicolisi, favorisce la fuoriuscita del potassio dalle cellule e quindi valori di potassio falsamente elevati
	1	Alcuni analiti che richiedono refriferazione sono:
	*	- catecolamine, ammonio, acido lattico, piruvato, gastrina, PTH
Inibitori	<b>√</b>	Agenti antiglicolitici (sodio fluoruro) sono utilizzati per prevenire variazioni di concentrazione di
metabolici	•	costituenti per un periodo di tempo più lungo (es. Glucosio)
motabolioi	1	Stabilizzano il glucosio fino a 24 ore a temperatura ambiente e fino a 48 ore a 2-8°C
		Trasporto
Tempo	<b>√</b>	La distanza fra i centri prelievo ed il laboratorio impone l'osservanza di rigorose condizioni di
		trasporto
	✓	I campioni devono essere trasportati in laboratorio nel minor tempo possibile
	✓	E' consigliato inviare i campioni entro le due ore dalla raccolta.
	✓	In casi contrario, occorre centrifugare i campioni di sangue per evitare un lungo contatto fra parte
		corpuscolata e parte liquida
Posizione delle	✓	Le provette devone essere collocate nei contenitori dedicati in posizione verticale
provette  ✓ La posizione verticale favorisce la comple		La posizione verticale favorisce la completa formazione del coagulo e riduce l'agitazione delle
		provette che è causa di potenziale emolisi
Agitazione dei	<b>✓</b>	Si impone la delicatezza nel trattare le provette per evitare l'emolisi delle emazie, quale causa di
campioni ed		interferenze chimiche
emolisi	✓	Un campione di plasma che contiene 20mg/dL di emoglobina si presenta di colore rosa; mentre
		un campione con 100 mg/dL di emoglobina è rosso.
	✓	Concentrazioni elevate di bilirubina possono mascherare l'emoglobina e una concentrazione
	1	elevata di Hb pari a 200 mg/dL non permette di rilevare 20 mg/dL di bilirubina I test fortemente influenzati dall'emolisi sono:
	*	- LDH, AST, Potassio Emoglobina
	1	I test influenzati in modo rilevante sono:
	*	- Ferro (aumenta), ALT (aumenta) T4 (diminuisce), CPK (aumenta)
		I test leggermente influenzati dall'emolisi sono:
Esposizione	✓	
		D, Vitamina E e Vitamina B6, Beta carotene, porfirine
	✓	Per evitare esposizione alla luce le provette devono essere protette da fogli alluminio.
Esposizione alla luce	<b>✓</b> ✓	<ul> <li>Fosforo, proteine totali, Albumina, Magnesio, calcio, Fosfatasi acida e quadro sieroproteico</li> <li>E' indispensabile evitare l'esposizione alla luce per lungo tempo di tutti i costituenti fotosensibili Vanno protetti campioni di Bilirubina (soprattutto dei neonati), Vitamina A, Vitamina C, Vitamina D, Vitamina E e Vitamina B6, Beta carotene, porfirine</li> </ul>



# INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

# 5.2 Fase di Check-in

	Ricezione campioni			
<b>Tempo</b> ✓ Alcuni campioni giunti in laboratorio vengono preparati per la centrifugazione. ✓ Devono essere centrifugati immediatamente i campioni raccolti con anticoagulanti.				
Temperatura	<ul> <li>✓ I campioni refrigerati devono essere tenuti a temperatura di 2-8°C fino al momer centrifugazione.</li> <li>✓ Vanno utilizzate centrifughe refrigerate.</li> </ul>			
Posizione delle provette	✓ Le provette devono rimanere in posizione verticale fino all'arrivo in laboratorio.			
Chiusura delle provette	iusura delle vette   Le provette ed i contenitori di altri liquidi biologici devono essere ben chiusi.  La chiusura permette di eliminare eventuali contaminazioni esogene, di prevenire l'evaporazio di evitare la possibilità di schizzi o di goccioline aerodisperse.			
	Criteri di non conformità al ricevimento campioni			
Inadeguata identificazioni dei campioni	entificazioni donea			
Non corretto volume di sangue	<ul> <li>✓ Nei contenitori si trova una certa quantità di additivo per un ben definito volume di sangue.</li> <li>✓ Quantità di sangue inferiori al volume richiesto non sono utili allo scopo e possono inficiare l'accuratezza dei risultati dei test.</li> <li>✓ Il non corretto rapporto sodio citrato/sangue può alterare il tempo di protrombina.</li> <li>✓ il non corretto rapporto EDTA/sangue può alterare la conta delle cellule, la morfologia delle cellule ed alcuni indici eritrocitari.</li> </ul>			
Utilizzo di provette non idonee	<ul> <li>✓ Il metodo, dipendente dei campioni da testare, richiede un corretto utilizzo di tipologie di provette che, suddivise per colore del tappo, ottimizzano l'utilizzo di provette e garantiscono un utilizzo proprio degli additivi impiegati.</li> <li>✓ Utilizzi impropri di additivi possono interferire con gli analiti da determinare.</li> <li>✓ Il sodio fluoride interferisce con l'ureasi per la determinazione della azotemia.</li> <li>✓ Il non corretto ordine di riempimento delle provette durante il prelievo può generare contaminazioni con additivi.</li> </ul>			
Emolisi	V L'inaccuratezza dei risultati causata dall'emolisi risulta da difficoltà nel prelievo e nell'utilizzo improprio del set di prelievo.  (vedi NOTA)  V II diametro degli aghi utilizzati per il prelievo possono creare turbolenza con conseguente rottura delle cellule e quindi emolisi.			
Inadeguate modalità di conservazione e trasporto	✓ I campioni refrigerati devono pervenire in laboratorio in contenitori dedicati e muniti di registratori di temperatura.			
	Preparazione dei campioni per la centrifugazione			
Piattaforma preanalitica automatizzata	<ul> <li>✓ Le provette di campioni di sangue vengono collocate sul sistema Aptio Automation, che seguendo una procedura dedicata ottimizza automaticamente alcune fasi della fase preanalitica.</li> <li>✓ La programmazione del Sistema Aptio Automation gestisce autonomamente tutti quei campioni di sangue che necessitano di centrifugazione.</li> <li>✓ Non vengono centrifugate campioni dedicati all'ematologia.</li> </ul>			
<del>-</del>	Centrifugazione			
Tempo di centrifugazione e forza centrifuga	✓ Si rimanda alla consultazione dei rispettivi manuali allegati alle centrifughe in uso.			
Controllo della temperatura	<ul> <li>✓ La disponibilità di centrifughe refrigerate permette la scelta di centrifugare a temperatura ambiente o a 2-4°C a seconda delle esigenze degli analiti da testare.</li> <li>✓ I campioni che provengono in laboratorio a temperatura di 2-8 °C vanno centrifugate indipendentemente da altri campioni.</li> </ul>			



# INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

#### 5.3 Fase di Post Check-in

Indicazioni generali					
In linea generale si consiglia di separare il siero o il plasma dalla parte corpuscolata il più presto possibile.					
consentono in accuratezza dei risultati.					
Viene indicato un limite di due ore dal momento della raccolta, salvo per quei campioni che tempi più consentono in accuratezza dei risultati.  ✓ I campioni di siero o plasma non devono rimanere più di otto ore a temperatura ambie ✓ Se i campioni non vengono testati entro le otto ore devono essere refrigerati a 2-8°C. ✓ Se le analisi non vengono completate entro le 48 ore, il siero/plasma non deve rima 48 ore nel frigorifero a 2-8° ma deve essere congelato a −20 °C. ✓ I campioni di sangue destinati alle <b>indagini bio-molecolari</b> per la ricerca dei virus HBV, devono essere centrifugati al momento del loro arrivo nel più breve tempo plasma (o il siero) deve essere successivamente separato dalla parte corpuscolata e in tubi sterili, a -20°C/-80°C fino al momento dell'analisi. ✓ Si deve scongelare una sola volta perché continui scongelamenti sono causa di alte campioni di siero/plasma. ✓ Sono sconsigliati congelatori <b>frost-free.</b>					

#### Nota

L'emolisi rappresenta la causa più frequente di inadeguatezza qualitativa dei campioni di sangue per il passaggio nel plasma o nel siero di emoglobina e di altre sostanze contenute negli eritrociti.

La lisi anomala degli eritrociti è riconoscibile nel siero quando la concentrazione di emoglobina supera i 0,2 g/l.

Una modesta emolisi può aumentare l'Albumina, la bilirubina ed il CK.

Un'accentuata emolisi, invece, può aumentare il Potassio, le transaminasi, LDH, il calcio ed il fosforo.

	EMOLISI IN VIVO	EMOLISI IN VITRO  E' considerata a tutti gli effetti un artefatto tecnico non correlato a situazioni cliniche	
Traumi degli eritrociti da agenti fisici	Protesi valvolari cardiache Ustioni estese Esercizi fisici intensi traumi muscolari	Emolisi chimica	Presenza di disinfettante, detergenti, acqua sulla pelle nella zona di prelievo, aghi di siringa e nei contenitori.
Presenza di agenti infettivi	Plasmodi malarici Clostridium welchii Tossine	Emolisi meccanica	Ago di calibro troppo piccolo.  Eccessiva forza di aspirazione in siringa (assente in provette sottovuoto).  Eccessiva pressione dello stantuffo quanto si travasa il sangue nelle provette se non viene tolto l'ago.  Mescolamento troppo violento nella provetta.  Prelievo da zone ematomatose.  Centrifugazione a velocità troppo elevata.
Deficit enzimatici endoeritrocitari	Glucosio-6-deidrogenasi Piruvato chinasi Difetti emoglobinici Presenza di emoglobine instabili Forme immuno-immediate:  1. Sindrome emolitico-anemica nel bambino 2. reazioni trasfusionali 3. porpora trombotica trombocitopenica	Emolisi fisica	Conservazione prolungata del campione a temperature non idonee Congelamento di sangue intero



#### INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

#### LABORATORIO DI ANATOMIA PATOLOGICA

#### 5.4 Fase di Pre Check-in

### 5.4.1 Campioni Istologici

### Indicazioni generali

Il materiale deve pervenire in appositi contenitori monouso o a chiusura ermetica immersi in formalina tamponata al 10%. Il volume del fissativo deve superare di almeno 5-10 volte il volume del fissato. I contenitori sono identificati con nome e cognome, bar-code e devono essere accompagnati dall'apposito modulo di richiesta di esame istologico (vedi sez. 02) compilato in ogni sua parte.

Nel caso in cui, per necessità diagnostiche, il campione debba pervenire a fresco, sarà cura del medico prelevatore o caposala delegato, contattare il personale del Servizio di Anatomia Patologica per stabilire le modalità ottimali di trasporto al fine di garantire una diagnosi corretta.

## 5.4.2 Campioni Citologici (liquidi corporei)

#### Indicazioni generali

I contenitori sono identificati con nome e cognome, bar-code e devono essere accompagnati dalla apposita richiesta di esame citologico (vedi sez. 02) completa in ogni sua parte.

I campioni pervenuti a fresco, privi di liquidi fissativi, devono essere refrigerati (+4°C) al fine di ridurne i processi di deterioramento cellulare dovuti all'esposizione all'aria o all'azione enzimatica.

La presenza di alcool 50% in quantità pari (o rapporto 1:1) al liquido biologico raccolto, garantisce una conservazione ottimale del campione. In questo caso si può inviare il campione a temperatura ambiente.

#### **Trasporto**

La distanza tra i centri prelievo ed il Servizio di Anatomia Patologica impone l'osservanza di rigorose condizioni di trasporto.

I campioni devono essere trasportati presso il Servizio nel minor tempo possibile. È necessario inviare i campioni entro 3-5 ore dalla raccolta.

# 5.4.3 Precauzioni

Le richieste di esame istologico e citologico devono essere separate dai relativi campioni identificati. Esse vanno posizionate in contenitori in plastica che ne garantiscano la preservazione da contaminazione con liquidi corporei.



#### INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

#### 5.5 Fase di Check-in

I campioni pervengono nell'apposita area di check-in.

Il personale tecnico, avvisato tempestivamente dell'arrivo del materiale, avrà cura di trasferirlo nell'area di chech-in interna al Servizio di Anatomia Patologica, verificando la conformità del campione (per il dettaglio si rimanda alla sez.07 par.7.4 del presente documento) e procedendo alla sua accettazione.

#### 5.6 Fase di Post Check-in

I campioni pervenuti vengono descritti o campionati secondo le linee guida della SIAPEC e le procedure del Collage of American Pathologists versione 2003). Tali linee guida sono consultabili a richiesta.

### 5.6.1 Campioni istologici

La parte residua, conseguente al campionamento dei pezzi operatori, viene riposta nuovamente nel contenitore identificato con bar-code, nome, cognome e rispettivo numero istologico progressivo e conservata in idonei armadi provvisti di aspirazione continua per un periodo di circa 2 mesi.

#### 5.6.2 Campioni citologici

Il materiale residuo ottenuto dopo processazione dei campioni e identificato da un numero citologico progressivo, viene fissato (addizionando pari volume di alcool 50°) e conservato refrigerato (a temperatura<10°C) fino al momento della refertazione. Nel caso di PAP-TEST/citologici in fase liquida, il materiale residuo verrà conservato a temperatura ambiente fino al momento della refertazione. I campioni PAP-TEST in fase liquida con diagnosi non negativa verranno conservati a temperatura ambiente in apposito armadio per circa 3 mesi dalla data di refertazione.

I preparati cito-istologici (vetrini e blocchetti di paraffina) vengono conservati e resi disponibili per eventuali consultazioni esterne mediante compilazione del modulo MD-LAP-012 "Modulo di richiesta e ritiro vetrini".

Tutti i preparati citologici e istologici sono conservati presso l'archivio del Dipartimento e sono consultabili in qualsiasi momento mediante richiesta (MD-LAP-012) del paziente o del suo medico curante.



#### INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

#### LABORATORIO DI GENETICA MEDICA

### 5.7 Campioni di genetica germinale e citogenetica pre e post natale

#### 5.7.1 Indicazioni al prelievo

I campioni destinati alla genetica germinale e alle indagini di citogenetica pre e post-natale devono essere inviati in laboratorio preferibilmente in giornata. In caso di impossibilità, conservare i campioni secondo le indicazioni contenute nella scheda test presente nella intranet aziendale, nella sezione documenti > schede test > settore (genetica medica). Nelle medesime schede sono riportate le modalità di trasporto per ciascun tipo di materiale, in funzione dell'indagine richiesta.

Il materiale pervenuto può essere:

- 1. Sangue intero in provetta K2/edta (tappo viola o rosa);
  - Adulti: 2 provette da 2-5 ml di sangue venoso;
- 2. Sangue intero in provetta eparinata (tappo verde);
  - Adulti: 2 provette da 2-5 ml di sangue venoso; Bambini: 1-2 ml di sangue venoso.
- 3. Liquido amniotico;
  - 15-20 ml prelevati sterilmente. Liquido amniotico NON commisto a sangue: utilizzare i contenitori sterili forniti, su richiesta, dal laboratorio di citogenetica. Distribuire il liquido amniotico in due provette distinte.
  - Liquido amniotico commisto a sangue: utilizzare le provette sterili contenenti litio-eparina fornite o indicate dal laboratorio di citogenetica. Le provette fornite devono essere stoccate in frigorifero (a +2-8°C) prima dell'utilizzo.
  - NB: per ridurre il rischio di contaminazione del campione con cellule di origine materna, si consiglia di non inviare al laboratorio i primi 2 ml di liquido amniotico prelevato. Ciò si ottiene sostituendo la siringa contenente i primi 2 ml con una seconda siringa vuota, con la quale prelevare il quantitativo di liquido necessario per l'analisi cromosomica.
- 4. Villi coriali;
  - 15-20 mg di villi coriali (quantità minima richiesta) prelevati sterilmente. Utilizzare esclusivamente i contenitori sterili forniti o indicati dal laboratorio di citogenetica (contenenti terreno di coltura). I contenitori devono essere conservati in frigorifero (a +2-8 °C). Riportare i contenitori a temperatura ambiente prima del prelievo.
- 5. Aspirato midollare in provetta eparinata (tappo verde);
  - Due provette tappo verde con 2 ml di sangue midollare prelevati sterilmente.
  - È preferibile consegnare al Laboratorio di citogenetica i primi 2 ml di midollo estratti, in quanto questi contengono una maggior percentuale di cellule, quelli prelevati successivamente possono infatti essere diluiti da sangue.
- 6. Materiale abortivo;
  - Frammenti di materiale abortivo, biopsia di tessuto fetale, prelevati sterilmente. Utilizzare i contenitori sterili forniti, su richiesta, dal laboratorio di citogenetica e contenenti terreno di coltura.



#### INDICAZIONI GENERALI DI TRATTAMENTO CAMPIONI

Via Fantoli, 16/15 20138 Milano Gruppo MultiMedica

Non disponendo di questi contenitori, utilizzare un contenitore sterile contenente soluzione fisiologica anch'essa sterile.

Le provette provenienti dal Punto Prelievi devono essere alloggiate in rack o in sacchetti posti, a loro volta, in borse a tenuta che vengono recapitate dal fattorino dell'ospedale al Laboratorio di Carattere Generale secondo gli orari riportati nella tabella "orari partenza provette da sedi Gruppo MultiMedica service (MD-MEDLAB-133).

I campioni possono pervenire al laboratorio di Genetica Medica nei seguenti orari di apertura:

- da lunedì a venerdì dalle 9.00 alle 18.00;
- il sabato dalle 8,30 fino a fine attività.

Durante la chiusura del servizio di genetica medica, le modalità di gestione e conservazione del materiale per l'opportuna verifica sono indicate nel modulo MD-MEDLAB-041.

I campioni di genetica germinale/citogenetica prelevati presso le sedi di MultiMedica devono essere identificati tramite gestionale amministrativo informatico, con procedura di accettazione amministrativa, prima delle attività di prelievo/raccolta.

Il gestionale amministrativo informatico produce etichette identificative e dialoga con il sistema informatico del laboratorio di genetica. L'elenco dei campioni in arrivo prelevati dalle sedi periferiche è quindi visibile nel gestionale informatico e stampabile per attività di verifica e confronto; sul gestionale informatico può essere perfezionata l'accettazione al ricevimento del materiale presso la genetica.