




healthincode

MANUAL DE REQUISITOS PARA LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS

Elaborado por:	Revisado por:	Autorizado por:
Dept QA&RA. <i>Iria Fraga</i>	Director QA&RA <i>Carmen Martín</i>	Director Laboratorios <i>Luis Santomé</i>
Fecha:14/07/2022	Fecha:14/07/2022	Fecha:14/07/2022 

CONTROL DE CAMBIOS

Versión	Motivo	Fecha
01	Emisión inicial	14/09/2018
02	Introducción del apartado de envasado	31/05/2019
03	Revisión y actualización del documento	10/09/2019
04	Actualización del porcentaje mínimo aceptable de celularidad tumoral	11/12/2019
05	Inclusión de las muestras naso-orofaríngeas	23/06/2020
06	Definición de requisitos específicos para el transporte de muestras	19/10/2020
07	Revisión, actualización y reestructuración del documento.	11/07/2022

ÍNDICE

1. INDICACIONES PREVIAS A LA TOMA DE MUESTRA	4
2. REQUISITOS DE MUESTRAS Y CONDICIONES DE ENVÍO	5
DIAGNÓSTICO PRENATAL	5
DIAGNÓSTICO POSTNATAL	5
DIAGNÓSTICO ONCOLÓGICO-HEMATOLÓGICO	6
DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE SARS-COV2	6
3. RECOMENDACIONES PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRA	7
4. IDENTIFICACIÓN Y EMBALAJE DE LAS MUESTRAS PARA SU TRANSPORTE AL LABORATORIO.....	11
IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	11
EMBALAJE Y ETIQUETADO DE LAS MUESTRAS A ENVIAR	11

1. INDICACIONES PREVIAS A LA TOMA DE MUESTRA

En este manual se indican las recomendaciones para la toma de muestra de las diferentes matrices de muestras necesarias para la realización de los estudios que ofrece Health in Code en su cartera de servicios.

La seguridad de cualquier paciente y del personal sanitario es fundamental para la atención en cualquier unidad médica. Para ello, es importante realizar la toma de muestras siguiendo los estándares de higiene y seguridad que se indican a continuación:

- **Identificación del paciente y de la muestra:** asegurar la identificación del paciente previo a la recolección de la muestra e identificar el envase contenedor de la misma antes de la extracción.
- **Uso de elementos básicos de seguridad:** indispensable para realizar la toma de muestras. Estos elementos de seguridad son guantes, batas, mandiles, gorros, mascarillas y todos aquellos elementos para evitar el contagio de enfermedades, la transmisión o liberación de virus y la conservación de las muestras en un estado más puro y natural.
- **Lavado de manos:** el jabón y los geles antisépticos son de uso común e imprescindible con el fin de evitar que el personal se contagie de alguna enfermedad o que contaminen las muestras al manipularlas.
- **Uso de material desechable:** si no se puede utilizar material desechable en algún caso, este será limpiado y esterilizado previo uso.
- **Limpieza:** limpieza de superficies con elementos desinfectantes previo y tras cada toma de muestra.

Antes de la obtención de muestra es necesario que el consentimiento informado sea leído, comprendido y firmado por el paciente, con ayuda del facultativo solicitante.

Consulte las condiciones de envío, así como los requisitos y tipos de muestras necesarias para la realización del estudio en las tablas mostradas en el apartado 2.

Para **el envío de las muestras** utilice nuestro servicio de mensajería, solicitando la recogida a través del correo electrónico recogidas@healthincode.com. Realice la solicitud teniendo en cuenta que la recepción de la muestra en el laboratorio debe realizarse de lunes a jueves de 8:00-17:00. Para la preparación de las muestras ver apartado 4.

2. REQUISITOS DE MUESTRAS Y CONDICIONES DE ENVÍO

DIAGNÓSTICO PRENATAL

Técnica	Tipo de muestra	Cantidad mínima requerida	Condiciones de envío
Genetal/Genetal Plus – Test prenatal no invasivo	Sangre periférica materna en tubo específico del kit Genetal	10 ml	Envío urgente <24h Tª ambiente
Técnicas moleculares basadas en ADN (Sanger, MLPA, CGH-Array, paneles NGS y exomas)	ADN genómico	80 – 3000 ng ⁽¹⁾	
	Líquido amniótico	Según disponibilidad ⁽¹⁾	
	Vellosidades coriales	Según disponibilidad ⁽¹⁾	
	Biopsias fetales	Según disponibilidad ⁽¹⁾	
	Sangre fetal	Según disponibilidad ⁽¹⁾	
	Sangre periférica en tubos EDTA de los progenitores (para despistaje)	1-2 tubos (5-15 ml)	

(1) En caso de limitaciones en la cantidad de ADN recibido u obtenido, se realizará la técnica más adecuada para el diagnóstico considerando el motivo del estudio. En cualquier caso, ninguna muestra de origen prenatal será rechazada sin haberse intentado realizar la prueba solicitada en el laboratorio.

DIAGNÓSTICO POSTNATAL

A continuación, se muestran la tipología de muestra preferente para las técnicas indicadas. Para otras matrices de muestras consultar con Health in Code a través de atencionalcliente@healthincode.com

Técnica	Tipo de muestra	Cantidad mínima requerida	Condiciones de envío
Técnicas moleculares basadas en ADN (Sanger, MLPA, paneles NGS, exomas, PCR digital y TP-PCR)	Sangre periférica en tubos EDTA	1-2 tubos (5-15 ml)	Recepción en 24-48h, Tª ambiente. Recepción >72h, refrigerado (4-8°C)
	ADN genómico	80 - 3000 ng ⁽¹⁾	Tª ambiente
	Células de la mucosa bucal en torunda o Saliva	Uso de kit específico para recogida	
	Sangre seca en papel Whatman (metabolopatías)	-	
Análisis de ARN	Sangre periférica en tubo PAXgene	1 tubo (2,5 ml)	Recepción en 24-48h, Tª ambiente. Recepción >72h, refrigerado (4-8°C)
CGH-Arrays	Sangre periférica en tubos EDTA	1-2 tubos (5-15 ml)	Recepción en 24-48h, Tª ambiente.
	ADN genómico	≥ 3 µg	Tª ambiente
	Celulas de la mucosa bucal en torunda	Uso de kit específico para recogida	

(1) Consultar según test solicitado

DIAGNÓSTICO ONCOLÓGICO-HEMATOLÓGICO

Técnica	Tipo de muestra		Requisito mínimo	Condiciones de envío
Técnicas moleculares orientadas al diagnóstico de cáncer somático y hereditario (Paneles NGS, exoma, Sanger y MLPA)	Sangre periférica en tubos EDTA (para estudios de ADN)		1-2 tubos (5-15 ml)	Recepción en 24-48h, Tº ambiente.
	Sangre periférica en tubos PAXGene (para estudios de ARN)		1 tubo (2,5 ml)	Recepción >72h, refrigerado (4-8ºC)
	Médula ósea en tubos EDTA		1 tubo (1 mL min.)	Tº ambiente
	ADN genómico		80 - 3000 ng ⁽¹⁾	
	Tejido fijado en formol parafinado (FFPE)	Biopsia de tejido en bloque de parafina	-	
		Cortes del bloque de parafina (necesaria estimación de la celularidad de la muestra tumoral, % de células tumorales/ total de la muestra)	8-10 cortes de 10µm de espesor	
		Portaobjetos con muestra fijada	8-10 cortes de 10µm de espesor (3 unidades min.)	
		Tejido obtenido de bloque de parafina (necesaria estimación de la celularidad de la muestra tumoral, % de células tumorales/ total de la muestra)	10-20 mg tejido tumoral	
	Tejido tumoral fresco o congelado (necesaria estimación de la celularidad de la muestra tumoral, % de células tumorales/ total de la muestra)		> 20mg	Envío en recipiente estéril y en contenedor refrigerado (4-8ºC) o congelado (-18ºC)
	Líneas celulares	ADN extraído a partir de 10 ⁶ células del cultivo celular	>250 ng	Refrigerado (4-8ºC)
Frasco de cultivo con la línea celular		-		
Pellet obtenido de cultivo celular		10-20 mg		
Cultivo celular fijado con formol y parafinado (en tubos eppendorf)		6-8 secciones de 10 µm de espesor		

⁽¹⁾ Consultar según test solicitado

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE SARS-COV2

Técnica	Tipo de muestra	Cantidad mínima requerida	Condiciones de envío
RT-PCR	Saliva	Uso de kit específico para recogida	Tº ambiente
PCR express	Exudado naso-orofaríngeo		Recepción en 24-48h, refrigerado a 4°C
Test de antígeno			

Test Virus Respiratorios			
Test de anticuerpos	Sangre periférica en tubo EDTA	1-2 tubos (5-15 ml)	Recepción en 24-48h, Tº ambiente.
Test ELISA			Recepción >72h, refrigerado (4-8ºC)

3. RECOMENDACIONES PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRA

A continuación, se aportan una serie de **recomendaciones** a considerar durante el proceso de obtención de muestra, para asegurar su calidad y la fiabilidad de los resultados obtenidos en el análisis:

- Sangre Periférica:
 - No es necesario que el paciente se presente en ayunas
 - Invierta suavemente el tubo de sangre varias veces para asegurar una correcta homogeneización con el anticoagulante.
 - En caso de solicitar estudio de ARN, además de la muestra de sangre en tubo PAXGene, debe extraer 5-15 ml de sangre periférica utilizando tubos con EDTA (esta muestra la utilizaremos para confirmar los resultados obtenidos tras el análisis de ARN)

NOTA: En caso de que no disponga de tubos PAXgene para estudios de RNA, pueden contactar con nosotros (atencionalcliente@healthincode.com) para que le hagamos llegar este tipo de viales.

- Células de la mucosa bucal - Saliva
 - Lea detenidamente las instrucciones del kit a emplear para la recogida de muestra
 - Asegúrese de que el extremo de la torunda no entra en contacto con ninguna superficie antes de la recolección.
 - No ingiera alimentos ni bebidas, fume, ni mastique goma de mascar, al menos media hora antes de la toma de muestra.
 - Antes de proceder a la recolección, lávese las manos para evitar la contaminación de la torunda.

NOTA: El material fungible necesario para la recogida de saliva en torunda puede ser suministrado desde Health in Code, solicitándolo a atencionalcliente@healthincode.com

- Sangre seca en papel Whatman
 - Se debe emplear tarjetas Whatman® FTA®, similares a Whatman FTA Classic card o Whatman FTA Mini Card.
 - Coloque la tarjeta en una superficie limpia, seca, y plana.
 - Distribuya la muestra uniformemente en toda la superficie marcada de la tarjeta (*ver Fig. 1*)
 - No permita que la pipeta o el tubo capilar llegue a tocar la tarjeta. Si la pipeta o punta del capilar entra en contacto con la tarjeta, el flujo de líquido no se dispersa entre la superficie y se produce una distribución desigual de la muestra, con lo que se puede producir un agotamiento local de los componentes de la tarjeta y la correspondiente desestabilización de esta.
 - Permita que el aire seque la tarjeta a temperatura ambiente durante al menos 2 horas. No utilice secadores ni equipos similares para acelerar el secado, ya que podría dañar el ADN.
 - No permita que la sangre se cubra ni se pegue mientras se seca.
 - Coloque la tarjeta seca en una bolsa de plástico para protegerla de la humedad durante el transporte.

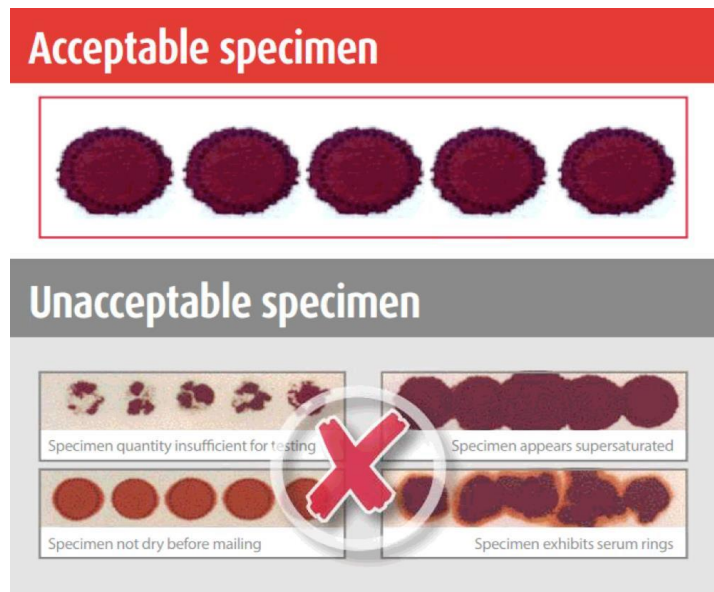


Fig. 1: Correcta utilización de tarjeta Whatman para la recogida de sangre

- Sangre periférica para análisis ADN fetal circulante en sangre materna
 - Lea detenidamente las instrucciones recogidas en el kit suministrado por Health in Code.
 - Emplear siempre el tubo incluido en el kit Genatal o Genatal Plus para la recogida de sangre
 - No es necesario que el paciente se presente en ayunas.

- Invierta el tubo 8 ó 10 veces para asegurar la homogeneización de la sangre con el anticoagulante. Un mezclado tardío o inadecuado puede resultar en unos resultados del test poco fiable.
- Tras su obtención, se debe mantener a temperatura ambiente (en un rango entre 15 y 30°C). No congelar ni enfriar.
- Muestras prenatales (líquido amniótico, vellosidades coriales, sangre fetal)
 - Nunca congele ni refrigere las muestras
- Tejido fijado en formol parafinado (FFPE)
 - Se recomienda el envío de una muestra de sangre periférica (tubo EDTA) del paciente para poder determinar con precisión las variantes somáticas y germinales identificadas en la muestra. Alternativamente, y con el mismo objetivo, puede enviarse una muestra de tejido no tumoral del paciente. En caso de envío de ADN ya extraído de muestra tumoral, es necesario tener una estimación de la celularidad de la muestra tumoral a partir de la cual se ha realizado la extracción de ADN.
 - Porcentaje de celularidad tumoral, como mínimo, del 30%. Porcentajes inferiores pueden dificultar la estimación de resultados, como en el caso del cálculo de CNVs.
 - Siempre se recomienda que un patólogo experto determine la idoneidad de la muestra mediante un corte de hematoxilina/eosina con el objetivo de delimitar la zona tumoral de la muestra y determinar la celularidad tumoral.
- Tejido fresco o congelado (FF)
 - El tejido puede ser obtenido directamente a partir de la pieza quirúrgica, a partir de varias tomas de muestra procedente de biopsia por aspiración con aguja fina, etc.
 - Se recomienda el envío de una muestra de sangre periférica (tubo EDTA) del paciente para poder determinar con precisión las variantes somáticas y germinales identificadas en la muestra. Alternativamente, y con el mismo objetivo, puede enviarse una muestra de tejido no tumoral del paciente.
 - En caso de envío de ADN ya extraído de muestra tumoral, es necesario tener una estimación de la celularidad de la muestra tumoral a partir de la cual se ha realizado la extracción de ADN.
 - Porcentaje de celularidad tumoral superior al 50%. Si la celularidad es inferior al 20%, el análisis e interpretación de resultados puede verse comprometido.
 - Siempre se recomienda que un patólogo experto determine la idoneidad de la muestra mediante un corte de hematoxilina/eosina con el objetivo de delimitar la zona tumoral de la muestra y determinar la celularidad tumoral.
- Líneas celulares tumorales

- Se recomienda el envío de una muestra de sangre periférica (tubo EDTA) del paciente para poder determinar con precisión las variantes somáticas y germinales identificadas en la muestra. Alternativamente, y con el mismo objetivo, puede enviarse una muestra de tejido no tumoral del paciente.
- Exudado naso/orofaríngeo para análisis de ARN vírico
 - Lea detenidamente las instrucciones del kit empleado (*ver Fig. 2*)
 - Considere la utilización de hisopos pediátricos para población pediátrica de corta edad.
 - Es imprescindible que utilice un kit específico para la recolección y conservación de muestras clínicas para la detección de microorganismos patógenos. Es necesario que el kit contenga medio de transporte de virus.
 - El hisopo debe tener la longitud requerida para recoger adecuadamente las muestras biológicas.
 - No recoja moco o saliva, ya que se contamina demasiado la muestra con bacterias comensales de la boca. En caso de que el paciente tenga demasiada secreción nasal, solicitar que se suene la nariz en una sala diferente a la de toma de muestras.
 - Asegure una correcta emulsión del exudado en el medio.

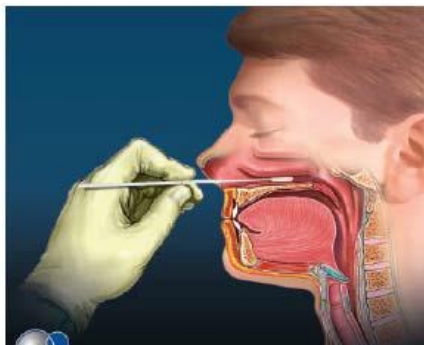


Fig. 2: Ejemplo de cómo realizar la toma de exudado naso/orofaríngeo

4. IDENTIFICACIÓN Y EMBALAJE DE LAS MUESTRAS PARA SU TRANSPORTE AL LABORATORIO

IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras deberán ir acompañadas del documento de solicitud de estudio, en el que se identifique el tipo de muestra, los datos del paciente, el estudio a realizar y el facultativo solicitante, así como cualquier información relevante que facilite el diagnóstico. Además, la muestra debe ser **etiquetada de forma que puede asociarse fácilmente al documento de solicitud remitido** (ej. iniciales del paciente, fecha de nacimiento, fecha de extracción, código del centro)

Las muestras serán revisadas a su llegada para comprobar su estado y adecuación a los requisitos anteriormente descritos. En caso de detectarse cualquier deficiencia, Health in Code contactará con el remitente, ya sea para subsanar errores de información o para comunicar la invalidez de la muestra y solicitar una nueva.

Las **causas más comunes de rechazo de las muestras recibidas** son las siguientes:

- Falta el documento de solicitud o está incompleto
- Identificación incorrecta de la muestra
- Muestras no enviadas en las condiciones requeridas
- Muestra no válida, defectuosa o en tubo roto
- Sangre periférica coagulada
- Muestra con baja calidad y/o insuficiente calidad

EMBALAJE Y ETIQUETADO DE LAS MUESTRAS A ENVIAR

Las muestras deben ser transportadas a los centros de diagnóstico de acuerdo con la **instrucción de embalaje P650** del Acuerdo ADR que se aplica a la norma **UN 3373** para el embalaje de sustancias peligrosas (la instrucción de embalaje P650 equivale a la instrucción 650 IATA).

La norma UN 3373 establece que la muestra sea transportada en **triple envase** (*ver Fig. 3*), robusto y que soporte golpes y cargas habituales del transporte, incluyendo el trasbordo entre vehículos, contenedores y almacén o la manipulación manual o mecánica. Los embalajes se construirán y cerrarán de forma que se evite cualquier fuga de su contenido, en las condiciones normales de transporte, por vibración o por cambios de temperatura, humedad o presión.

El triple envase constará de:

- Recipiente primario estanco
- Embalaje secundario estanco
- Embalaje exterior rígido

Para el transporte por superficie no se establece una cantidad máxima por paquete. Para el transporte aéreo se requiere que:

- La capacidad de los recipientes primarios no supere 1 litro (para líquidos) o la masa límite del embalaje externo (para sólidos).
- El volumen enviado no supere 4 litros o 4 kg por paquete.

Estas cantidades excluyen el hielo y el hielo seco cuando sean utilizados para mantener las muestras frías.



Fig. 3: Ejemplo de sistema de embalaje/ensado triple para el embalaje y etiquetado de sustancias potencialmente infecciosas.

En el caso de que se utilice hielo o hielo seco para refrigerar la muestra, éste NUNCA debe ir en el interior del embalaje secundario.

La información acompañante a las muestras enviadas debe colocarse entre el embalaje secundario y el embalaje exterior, NUNCA en el interior del embalaje secundario.

Si se cumplen todos los requisitos establecidos en la Instrucción de embalaje/ensado P650, no se establecen requerimientos de transporte adicionales. La Instrucción P650 comprende todos los requisitos necesarios para el envío de sustancias infecciosas de categoría B.

Independiente del medio de transporte, en cada paquete se expondrá la información siguiente:

- el nombre, la dirección y el número de teléfono del expedidor (remitente, consignador).
- el número de teléfono de una persona responsable e informada acerca del envío.

- el nombre, la dirección y el número de teléfono del destinatario (consignatario).
- requisitos relativos a la temperatura de almacenamiento (optativo).
- la designación oficial de transporte «BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B».



Fig. 4 Marca empleada para envíos que contienen sustancias potencialmente infecciosas