INDICE

1. DIAGNOSTICA GENETICA 1
2. DIAGNOSI PRE-IMPIANTO 3
3. DIAGNOSI PRENATALE – TEST NACE § 4
4. TEST ERA, EMMA e ALICE § 5

1. DIAGNOSTICA GENETICA

1.1. PRELIEVO CAMPIONI EMATOLOGICI PER FIBROSI CISTICA, X-FRAGILE, MICRODELEZIONI CROMOSOMA Y, REPROGENE, CGT PRE PGT-M E CARIOTIPO

1.1.a. Modalità di esecuzione:

Non è necessaria nessuna preparazione preliminare e non serve essere a digiuno.

E' compito del prelevatore:

- controllare dalla ricevuta gli esami da eseguire e verificare che siano state preparate le idonee provette con le etichette dedicate;
- procedere al prelievo solo dopo l'esatta identificazione del paziente (esempio nome-sesso-età).

Le provette da utilizzare sono le seguenti:

Per fibrosi cistica, X-fragile, microdelezioni cromosoma Y

1 Provetta con EDTA (tappo lilla) Volume necessario 3,0 ml di sangue

Per ReproGene, CGT e Pre PGT-M

2 Provette con EDTA (tappo lilla) Volume necessario 3,0 ml di sangue

Per cariotipo

1 Provetta Litio-eparina (tappo verde) Volume necessario 5,5 ml di sangue

Si raccomanda di inviare il campione al laboratorio il giorno stesso del prelievo.

Le provette vanno capovolte 3-4 volte lentamente per evitare la formazione di coaguli e/o schiuma di agitazione con alterazioni dell'integrità cellulare.

Inserire le singole provette negli appositi porta-provette/sacchetti Biohazard seguendo l'ordine previsto e verificare la corrispondenza attesa.

1.1.b. Processazione

I campioni non necessitano di nessuna processazione preliminare all'esecuzione delle indagini.

1.1.c. Modalità di conservazione campioni ematologici

I campioni raccolti possono essere conservati a:

- Temperatura ambiente per 8 ore,
- 2-8°C per 7 giorni,
- -20°C per 3 mesi.
- **Solo per il cariotipo: le provette vanno conservate a temperatura ambiente al massimo per 5 giorni; oltre i 5 giorni non è garantita l'integrità del campione e non si procede con l'analisi.**

1.1.d. Modalità di imballaggio e trasporto campioni ematologici

Nel caso in cui siano campioni interni, le provette tappate vanno riposte nel porta-provette, quindi nel safety box in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003 e consegnate al laboratorio.

Nel caso in cui siano campioni da e per l'esterno, le provette tappate vanno riposte nel sacchetto Biohazard, corredate della necessaria documentazione per l'esecuzione delle indagini, quindi nel safety box in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003.
L'imballaggio dei campioni deve essere effettuato in modo da assicurare la massima sicurezza sia per il materiale che per gli operatori.
I campioni vanno inviati tramite corriere qualificato presso il laboratorio entro 24 ore dall'accettazione.

1.2. RACCOLTA MATERIALE BIOLOGICO PER TROMBOFILIA E PRE PGT-M

1.2.a. Modalità di esecuzione

Per la raccolta del materiale biologico mediante l'esecuzione dei tamponi buccali è necessario che il paziente osservi un digiuno da almeno un'ora.
E' compito del prelevatore controllare dalla ricevuta gli esami da eseguire e verificare che siano state preparati i tamponi con le etichette dedicate.
N.B. nel caso di raccolte effettuate direttamente dal paziente è necessario scrivere sul contenitore del tampone: Nome, Cognome, data di nascita e data del prelievo.

Appoggiare il tampone sulla superficie da analizzare e ruotarlo in modo da distribuire il materiale su tutto il tampone e riporlo nella sua custodia.

1.2.b. Processazione

I campioni non necessitano di nessuna processazione preliminare all'esecuzione delle indagini.

1.2.c. Modalità di conservazione materiale biologico

I campioni raccolti possono essere conservati a:

- Temperatura ambiente per 8 ore,
- 2-8°C per 7 giorni,
- -20°C per 3 mesi.

1.2.d. Modalità di imballaggio e trasporto materiale biologico

Nel caso in cui siano campioni interni, le provette tappate vanno riposte nel porta-provette, quindi nel safety box in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003 e consegnate al laboratorio.

Nel caso in cui siano campioni da e per l'esterno, le provette tappate vanno riposte nel sacchetto Biohazard, corredate della necessaria documentazione per l'esecuzione delle indagini, quindi nel safety box in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003.
L'imballaggio dei campioni deve essere effettuato in modo da assicurare la massima sicurezza sia per il materiale che per gli operatori.
I campioni vanno inviati tramite corriere qualificato presso il laboratorio entro 24 ore dall'accettazione.

2. DIAGNOSI PRE-IMPIANTO

RACCOLTA DI CELLULE DEL TROFOECTODERMA COME INDICATO IN IDL 3.7.11 PROTOCOLLO DI LOADING PER PGT

a. Modalità di esecuzione:

Per la diagnosi Pre-impianto, è necessario che il centro esegua una coltura prolungata dell'embrione in 5°-7° giornata ovvero quando l'embrione raggiunge lo stadio di blastocisti ed effettui quindi una biopsia di alcune cellule del trofoectoderma. (Human Reproduction, Vol.26, No.1 pp. 14–24, 2011 ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening; Scott et al., Fert Steril 2012; Scott et al., 2013a; Capalbo A., et al. Hum Reprod. 2013)

E' compito dell'embriologo:

- ✓ identificare le provette che conterranno i campioni mediante le iniziali del nome e cognome della paziente e Id. della coppia seguito dal numero dell'embrione biopsiato,
- ✓ trasferire nelle provette le cellule raccolte ed allegare ai campioni la documentazione relativa alla identificazione della coppia, allo sviluppo embrionario, alla biopsia effettuata e alla classificazione della blastocisti (cartella di biopsia).

  Per PGT-A e PGT-SR

  Le cellule prelevate devono essere poste in provette di PCR con 2,5 µl di loading solution (**LS**).

  Per PGT-M

  Le cellule prelevate devono essere poste in provette di PCR con 1,5 µl di soluzione ipotonica (**HS**).

b. Processazione

Subito dopo il trasferimento delle cellule centrifugare le provette per 20 secondi.

Solo per PGT-M

Poi eseguire il protocollo di lisi e frammentazione cellulare. (Human Reproduction, Vol.26, No.1 pp. 14–24, 2011 ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening; Treff et al., Fertil Steril 2012; Scott et al 2013a; Forman et al., Fertil Steril 2013; Scott et al., Fertil Steril 2013b).

c. Modalità di conservazione

I campioni raccolti possono essere conservati a 2-8°C per 4 ore

I campioni lisati possono essere conservati a:

- 2-8°C per 8 ore,
- -20°C per 6 mesi.

d. Modalità di imballaggio e trasporto cellule embrionali

Le provette tappate vanno riposte nel rack specifico (Cooler), preventivamente refrigerato a -20°C, che sarà a sua volta inserito insieme a tre siberini (posti lateralmente e superiormente) nel safety box in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003 e consegnate al laboratorio unitamente alla documentazione relativa al materiale da analizzare (cartella di biopsia, TRF e consenso informato). Tale documentazione va correttamente compilata e firmata dagli operatori del Centro.

L'imballaggio dei campioni deve essere effettuato in modo da assicurare la massima sicurezza sia per il materiale che per gli operatori.

I campioni vanno inviati tramite corriere qualificato presso il laboratorio entro 24 ore dall'accettazione.

3. DIAGNOSI PRENATALE – TEST NACE §

a. Modalità di esecuzione:

Per la diagnosi prenatale, va effettuato un prelievo ematico (ca 8 ml) e non serve essere a digiuno.

Igenomix Italia fornisce il kit per eseguire il prelievo ematico e la provetta deve pervenire al laboratorio correttamente siglata con nome, cognome e data di nascita della paziente, e data del prelievo.

E' compito del prelevatore procedere al prelievo solo dopo l'esatta identificazione del paziente (esempio nome-sesso-età).

Le provette vanno capovolte 10 volte lentamente per evitare la formazione di coaguli e/o schiuma di agitazione con alterazioni dell'integrità cellulare.

b. Processazione

I campioni non necessitano di nessuna processazione preliminare all'esecuzione delle indagini.

c. Modalità di conservazione del materiale biologico

Il campione per NIPT va raccolto in provetta Cell-Free DNA BCT CE per la raccolta di sangue intero con conservazione a 6-37°C per 5 giorni. **Si raccomanda di inviare il campione al laboratorio il giorno stesso del prelievo.**
Oltre i 5 giorni dal prelievo l'integrità del campione non è garantita e non si procede con l'analisi genetica.

d. Modalità di imballaggio e trasporto materiale biologico

Nel caso in cui siano campioni interni, le provette tappate vanno riposte nell'apposito kit corredate della necessaria documentazione per l'esecuzione delle indagini, in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003 e consegnate al laboratorio.

Nel caso in cui siano campioni da e per l'esterno, le provette tappate vanno riposte nel sacchetto Biohazard, corredate della necessaria documentazione per l'esecuzione delle indagini, quindi nel safety box in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003.
L'imballaggio dei campioni deve essere effettuato in modo da assicurare la massima sicurezza sia per il materiale che per gli operatori.
I campioni vanno inviati tramite corriere qualificato presso il laboratorio entro 24 ore dall'accettazione.

4. TEST ERA, EMMA e ALICE §

a. Modalità di esecuzione:

Biopsia endometriale effettuata dal ginecologo in regime ambulatoriale.
Igenomix Italia fornisce il kit per eseguire la biopsia endometriale e la provetta deve pervenire al laboratorio correttamente siglata con iniziali della paziente, data di nascita, numero di cartella clinica.
Per il test ERA è possibile effettuare una preparazione con terapia ormonale sostitutiva (TSO).

b. Processazione

I campioni non necessitano di nessuna processazione preliminare all'esecuzione delle indagini.

c. Modalità di conservazione del campione biologico

Il campione di biopsia endometriale va raccolto nell'apposita provetta (fornita nel kit) e conservato in frigo a 2°-8°C per un tempo minimo di 4 ore; poi sarà stabile a temperatura ambiente fino a 3 settimane.

d. Modalità di imballaggio e trasporto materiale biologico

Le provette tappate vanno riposte nell'apposito kit, corredate della necessaria documentazione per l'esecuzione delle indagini, in accordo alla circolare del Ministero della sanità nr.16/1994 e 3/2003.

L'imballaggio dei campioni deve essere effettuato in modo da assicurare la massima sicurezza sia per il materiale che per gli operatori.

I campioni vanno inviati tramite corriere qualificato presso il laboratorio entro 24 ore dall'accettazione.

NOTE: Il simbolo "§"significa che sono test che non rientrano nel campo di applicazione dell'accreditamento ISO 15189.