

Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT			
Congélation en tubes du tissu			
Numéro de PNF:	8.3.003	Version	f1.0
Remplace:	SR 001.001	Date d'entrée en vigueur	09 Jan 08
Objet :	Congélation en tubes du tissu	Catégorie	Manipulation et documentation du matériel

Préparée par:		Jean de Sousa-Hitzler		
	Signature	Nom	Titre	jjmmaa
Préparée par:		Peter Geary	CEO	09 Jan 08
	Signature	Nom	Titre	jjmmaa
Préparée par:				
	Signature	Nom	Titre	jjmmaa

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Numéro de PNF	Date d'entrée en vigueur	Auteurs (Initiales)	Résumé des révisions
LP 002.001	2005	JdSH	PNF générique du RCBT pour la collecte et le traitement du tissu tumoral
8.3.003	2008	JdSH	Révisée pour couvrir la collecte de tissu et le transport de la salle d'opération (SO) vers le département de pathologie ou le laboratoire
8.3.003 f1.0	Août 2009	LC	Traduction française de 8.3.003 e1.0

1.0 INTENTION

Les échantillons de tissu (excédents au besoin de la pathologie) sont prélevés des patients qui ont donné leur consentement éclairé et accepté de participer au programme de banque de tumeurs. La collection de tissus fraîchement congelés est une ressource importante pour des fins de recherche. Les tissus tumoraux conviennent aux études génomiques et protéomiques seulement si la congélation est réalisée rapidement et de manière appropriée. L'intention de ce document est de tracer les grandes lignes des procédures normalisées pour les banques du RCBT afin de suivre les étapes de la congélation des tissus en tubes.

2.0 PORTÉE

Cette procédure normalisée de fonctionnement (PNF) décrit comment les tissus sont congelés dans les tubes. Cette PNF ne couvre pas les procédures de sécurité détaillées

pour la manipulation du matériel biologique humain (MBH) et il est recommandé que le personnel suive les guides de biorisque des institutions.

3.0 RÉFÉRENCES À D'AUTRES POLITIQUES ET PNFS

1. Politique du RCBT: POL 005.001 Registres et documentation
2. Politique du RCBT: POL 002.001 Éthique
3. Politique du RCBT: POL 004.001 Vie privée et sécurité
4. Politique du RCBT: POL 007.001 Manipulation du matériel et de l'information
5. PNF générique du RCB : FS 002.001: PNF générique du RCBT pour la collecte et le traitement du tissu tumoral
6. PNF du RCBT: 8.3.001 Collecte et transport du tissu
7. PNF du RCBT: 8.3.002 Prise en charge du tissu
8. PNF du RCBT: 8.1.002 Gestion des déchets du matériel à biorisque

4.0 RÔLES ET RESPONSABILITÉS

Cette politique s'adresse à tout le personnel des banques membres du RCBT qui est responsable de la congélation en tubes des tissus collectés

Personnel de la banque de tumeurs	Responsabilité/rôle	Site personnel spécifique et coordonnées de contact
Technicien de laboratoire	Transport du tissu tumoral, du processus de prise en charge de la congélation et de l'entreposage des tissus.	
Assistant pathologiste	Assiste la prise en charge et le transport du tissu. Peut communiquer avec le technicien du laboratoire	

5.0 MATÉRIEL, ÉQUIPEMENT ET FORMULAIRES

Le matériel, l'équipement et les formulaires inscrits dans la liste suivante ne sont que recommandés et peuvent être substitués par des produits alternatifs/équivalents plus appropriés aux tâches ou aux procédures spécifiques aux sites.

Matériel et équipement	Matériel et équipement (spécifiques au site)
Contenant avec glace sèche (pour le transport du tissu congelé)	
Marqueurs, encre et crayons	

Pinces propres	
Scalpels propres pour couper le tissu	
Azote liquide	
2-Methylbutane (isopentane)	
Contenant pour isopentane	
Cryovals étiquetés pour entreposage des tissus congelés (couvercle vissé)	
Étiquettes appropriées suffisantes (voir PNF # 8.1.001) pour cryovals	
Vase cryogénique (Vase de Dewar) pour le transport de l'azote liquide	
Unité de récupération des aiguilles et des objets tranchants	
Gants jetables pour protéger le personnel manipulant le tissu	
Verres de sécurité pour le personnel manipulant les réservoirs d'azote liquide et les contenants pour l'entreposage.	
Gants isolants convenant à la manipulation des réservoirs d'azote liquide et des contenants pour l'entreposage.	
Recouvrement (underpad) propre pour la surface de travail	
Feuille de travail de collecte/traitement du tissu (voir annexe 1 pour le formulaire des échantillons)	

6.0 DÉFINITIONS

Cryopréservation: Processus pour entreposer le matériel biologique à très basses températures pour une longue période.

7.0 PROCÉDURES

Cette procédure a été développée pour s'assurer que les tissus prélevés des participants consentants seront congelés de façon sécuritaire et efficace de manière à éliminer tout risque de contamination ou de perte d'intégrité moléculaire. Afin de faciliter les techniques de génomique et de protéomique, les tissus mis en banque et adéquatement congelés sont primordiaux pour obtenir des produits de haute intégrité et de qualité.

7.1 Congélation en tubes des tissus tumoraux

1. Traiter tous les tissus comme potentiellement infectieux.
2. La congélation est effectuée par un technicien de laboratoire ou une personne formée et désignée par la banque de tumeurs.
3. Avoir le matériel et l'équipement prêts. Avoir la quantité nécessaire d'ampoules de congélation étiquetées et prêtes.

4. À moins d'être destinés à une autre méthode de préservation, le tissu tumoral frais devrait être congelé aussitôt que possible. De façon optimale, le tissu devrait être congelé à l'intérieur de 30 minutes après la résection.
5. Ne pas congeler le tissu directement sur la glace.
6. S'assurer que le tissu réséqué ne se dessèche jamais ou soit contaminé par du tissu avoisinant ou par d'autres échantillons. Utiliser des pinces et des scalpels propres entre chaque échantillon pour éviter la contamination croisée entre les échantillons ou entre le tissu tumoral et normal.
7. Le tissu congelé en tubes est approprié pour l'extraction d'ADN, d'ARN et de protéines. Ne pas placer l'échantillon en contact avec le formol à aucun moment du processus. Ne pas ajouter de sérum à l'échantillon.
8. Refroidir l'isopentane en suspendant le contenant d'isopentane dans de l'azote liquide. L'isopentane est suffisamment refroidi lorsque des "perles" se forment et que la solution devient trouble.
9. À l'aide de pinces propres, placer le spécimen à être congelé dans des ampoules à congélation vide et à couvercle qui visse.
10. Fermer les ampoules à congélation.
11. Placer les ampoules à congélation avec le spécimen dans le contenant d'isopentane refroidi.
12. Le spécimen devrait être congelé à l'intérieur de 30 secondes.
13. L'étape avec l'isopentane peut être optionnelle. Si l'isopentane n'est pas utilisé, placer le spécimen de tissu dans l'ampoule à congélation vide, fermer l'ampoule et la submerger immédiatement dans l'azote liquide. Le spécimen devrait être congelé à l'intérieur de 30-60 secondes. Ceci n'est cependant pas recommandé si l'échantillon est de gros volume parce qu'un temps de congélation plus long endommagera la morphologie du tissu.
14. Une fois le tissu congelé dans le tube, transférer l'échantillon dans un contenant d'azote liquide (de préférence) ou à dans un congélateur à moins -80° C (ou à température plus basse).
15. Les échantillons devraient être placés sur glace sèche lorsqu'ils sont transportés au congélateur ou aux installations d'azote liquide.
16. Dans l'azote liquide, il est recommandé que les échantillons soient placés en phase vapeur de l'azote liquide.
17. Enregistrer le lieu d'entreposage.
18. Enregistrer l'heure de la congélation sur la feuille de travail de la "Collecte/prise en charge du tissu" (voir annexe 1). Déterminer le temps entre la résection et la congélation et l'enregistrer le plus précisément possible. Si vous ne pouvez faire autrement, enregistrer le temps approximatif (en utilisant des intervalles de 15 minutes) entre la résection et la congélation (ex : en 30 minutes ou entre 30-45 minutes etc.).

8.0 RÉFÉRENCES, RÈGLEMENTS ET LIGNES DIRECTRICES

1. Declaration of Helsinki. <http://ohsr.od.nih.gov/helsinki.php3>
<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>
2. Tri-Council Policy Statement; Ethical Conduct for Research Involving Humans; Medical Research Council of Canada; Natural Sciences and Engineering Council of Canada; Social Sciences and Humanities Research Council of Canada, August 1998. <http://www.pre.ethics.gc.ca/english/policystatement/policystatement.cfm>
3. Human Tissue and Biological Samples for use in Research. Operational and Ethical Guidelines. Medical Research Council Ethics Series. http://www.mrc.ac.uk/pdf-tissue_guide_fin.pdf
4. Best Practices for Repositories I. Collection, Storage and Retrieval of Human Biological Materials for Research. International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER). <http://www.isber.org>
5. National Bioethics Advisory Commission: Research involving human biological materials: Ethical issues and policy guidance, Vol. I: Report and recommendations of the National Bioethics Advisory Committee. August 1999. <http://bioethics.georgetown.edu/nbac/hbm.pdf>
6. US National Biospecimen Network Blueprint http://www.ndoc.org/about_ndc/reports/NBN_comment.asp
7. Jewell, S. et al. Analysis of the Molecular Quality of Human Tissues, an experience from the Cooperative Human Tissue Network. Am. J. Clin. Pathol. 2002;118:733-741.
8. Guideline – Fresh Tissue Working Group of BIG and NCI breast cancer Cooperative Groups http://ctep.cancer.gov/forms/guidelines_fresh_tissue.pdf

Annexe A- Formulaire pour échantillon

Le formulaire pour la collecte de tissu peut être adapté aux sites spécifiques pour recueillir les informations pertinentes aux sites. Le formulaire suivant peut être utilisé comme guide pour les informations à saisir.

Collecte et transport du tissu

Site de collecte	
Date de la résection du tissu	
Heure de la résection du tissu	
Date de la réception du tissu par le laboratoire de pathologie	
Heure de la réception du tissu par le laboratoire de pathologie	
Nom de la personne qui a transporté le tissu	
Le tissu a-t-il été transporté sur glace?	oui non
Pathologiste (Nom)	
Notes additionnelles:	

Information sur l'échantillon

Numéro (Identifiant unique)	Type de tissu	Est-ce que le tissu normal correspondant était disponible et a-t-il été recueilli?	Taille de la tumeur	Observations sur le tissu

Prise en charge du tissu

Pris en charge par: Nom du technicien

Heure de la congélation: Il est vraiment important d'enregistrer cette heure

Indiquer si le tissu a été recueilli pour:

1. Collecte de tissu frais congelé.

Numéro (identifiant)	Congélation en tube	Date de congélation	Heure de congélation	Taille de l'échantillon	Lieu d'entreposage

2. Congélation dans OCT

Numéro (identifiant)	Congélation en tube	Date de congélation	Heure de congélation	Taille de l'échantillon	Lieu d'entreposage

3. Fixé au formol. Oui Non Date: Lieu d'entreposage:

4. Entreposé sous une autre forme (ex. dans RNAlater®) oui non
Date: Lieu d'entreposage: