

<b>Procédure normalisée de fonctionnement Traitement et entreposage du sang</b>			
Numéro de PNF:	8.2.002	Version	f1.0
Remplace:	LP 001.001	Date d'entrée en vigueur	09 Jan 08
Objet:	Traitement et entreposage du sang	Catégorie	Manipulation et documentation du matériel

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

### Historique des révisions

Numéro de PNF	Date des modifications	Auteur (Initiales)	Résumé des révisions
LP 001.001	2005	JdSH	PNF générique du RCBT pour la collecte et le traitement du sang
8.2.002	2008	JdSH	Révisée pour couvrir le traitement du sang seulement
8.2.002 f1.0	2008	LC	Traduction française de 8.2.002 e1.0

## 1.0 INTENTION

Les échantillons de sang sont prélevés des patients qui ont suivi le processus d'obtention de consentement éclairé et accepté de participer dans un programme de banques de tumeurs. Les échantillons de sang sont prélevés par du personnel qualifié dans les centres de cancérologie, dans les hôpitaux ou dans les bureaux de médecins. Les produits du traitement du sang sont une importante ressource de la banque de tumeurs. L'intention de ce document est de tracer les grandes lignes des procédures normalisées pour les banques du RCBT afin de suivre le traitement du sang.

## 2.0 PORTÉE

Cette politique normalisée de fonctionnement (PNF) décrit comment le sang doit être transporté, traité, mis à la disposition des chercheurs et entreposé. Cette PNF ne couvre pas les procédures de sécurité détaillées pour la manipulation du sang 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 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 du traitement du sang afin d'en obtenir des produits dérivés pour entreposer dans la banque de tissus. Elle s'applique aussi à la personne responsable de la collecte du sang d'un participant consentant.

Personnel de la banque de tumeurs	Responsabilité/rôle	Site personnel spécifique et coordonnées de contact
Assistant de recherche	Transport, traitement et entreposage du sang et de ses produits dérivés	

## 5.0 MATÉRIEL, ÉQUIPEMENTS ET FORMULAIRES

Le matériel, l'équipement et les formulaires inscrits sur 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)
Tubes de collecte du sang pour le plasma (ex : tube avec bouchon lavande avec EDTA)	Tube à couvercle lavande avec EDTA
Tubes de collecte du sang (ex : tube pour séparer le sérum)	
Tubes pour l'extraction des acides nucléiques du sang (ex : tube Paxgene )	
Cryotubes de 2.0 ml	
Centrifugeuse	

Produit filtrant pour l'entreposage à long terme de l'ADN (ex Whatman FTA Elute)	
Pipetteurs	
Pipettes de transfert	
Embouts et pipettes aérosol-résistants	
Boîtes d'entreposage	
Gants pour protéger le technicien de laboratoire	
Supports appropriés pour tenir les tubes durant le processus	
Étiquettes appropriées suffisantes (voir PNF # 8.1.001) pour les tubes de collecte et pour les feuilles de travail du processus de collecte et de traitement du sang	
Feuilles de travail du processus de collecte et de traitement du sang (voir annexe 1 pour le formulaire de l'échantillon)	Nom du formulaire spécifique au site et version #

## 6.0 DÉFINITIONS

**Enregistrement** Le processus d'enregistrement des additions à la collection de la banque de tissus dans le système d'inventaire ou la base de données.

**Anticoagulant:** Une substance qui prévient la coagulation ou l'épaississement du sang.

**EDTA:** Éthylenediamine tétra-acétate. Le EDTA lie les ions calcium bloquant ainsi la cascade de coagulation. Les tubes pour la collecte de sang contiennent un anticoagulant.

**Plasma :** Fraction du sang qui reste après que les érythrocytes aient été enlevés du sang complet.

**Couche de globules blancs «buffy coat»:** Une mince couche grisâtre de cellules blanches de sang (leucocytes et plaquettes) trouvée à la surface de la densification des érythrocytes (cellules rouges de sang) d'un hémocrite.

**Sérum:** Partie liquide du sang complet duquel les globules rouges et les protéines coagulantes ont été enlevées.

## 7.0 PROCÉDURES

Cette procédure a été développée pour s'assurer que les échantillons de sang obtenus des participants consentants sont traités de manière sécuritaire et efficace tout en éliminant les risques de contamination et de perte.

## **7.1 Synchronisation pour la collecte et le traitement du sang**

1. Préférentiellement, la collecte du sang devrait se faire avant l'intervention chirurgicale et dans un délai le plus court possible à partir du moment où le tissu est donné à la banque ou à un moment alternatif approprié aux travaux de recherche.
2. Étant donné que les délais pour le traitement et la cryopréservation du sang ne sont pas aussi rigoureux que pour les échantillons de tissus tumoraux, il est recommandé que l'ARN du plasma et de la couche de globules blancs soit traité dans les 24 heures après le prélèvement. Il est utile pour les analyses protéomiques du sérum ou du plasma que les moments du prélèvement et de la congélation des aliquots soient enregistrés dans la base de données.
3. Communiquer avec le personnel responsable de la collecte du sang afin d'être informé que le sang a été prélevé et pour connaître les besoins à considérer durant le traitement.

## **7.2 Vérification de l'identification de l'information sur les tubes.**

1. Vérifier l'information du patient (en accord avec la politique de vie privée et de confidentialité) et s'assurer qu'elle correspond aux informations sur les étiquettes des tubes de collecte du sang.

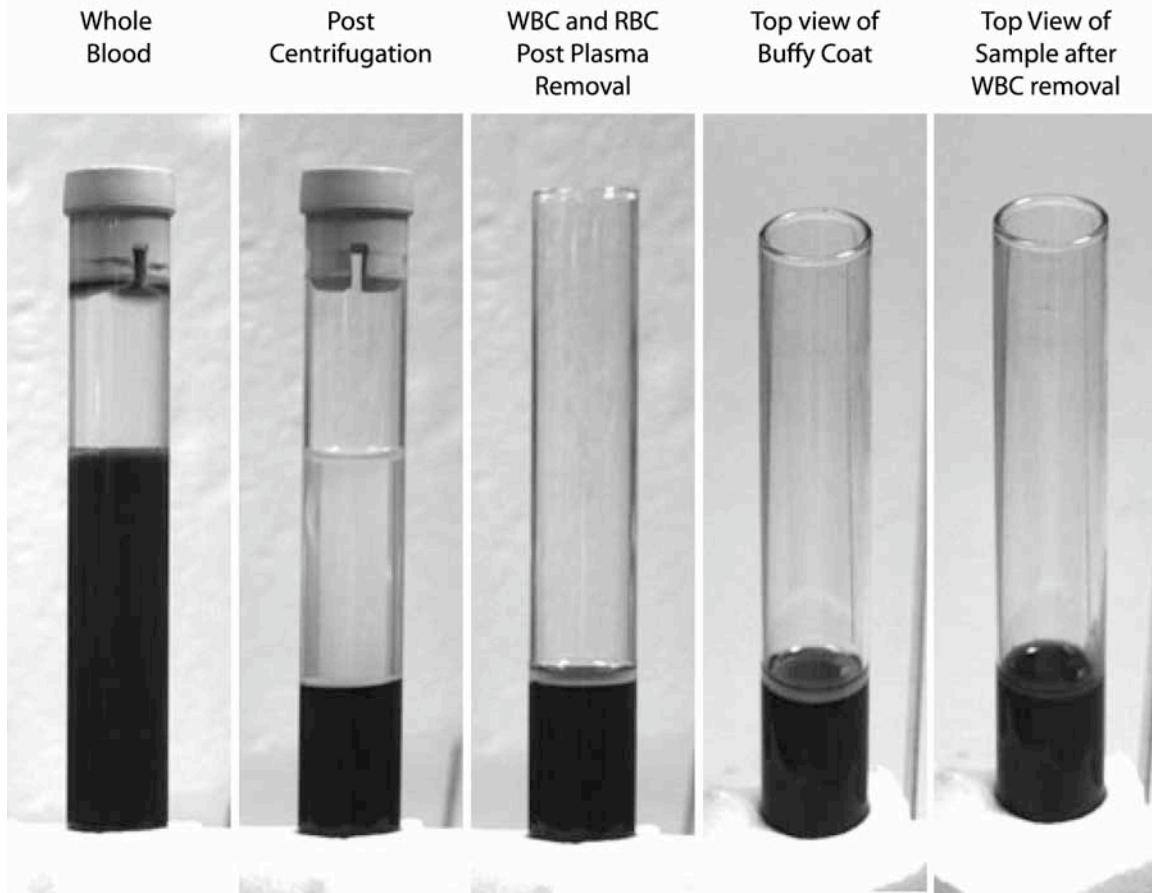
## **7.3 Séparation du plasma de la fraction cellulaire**

Le sang entier peut être traité directement pour l'ADN ou l'ARN, ou traité tel que décrit plus bas pour obtenir la couche de globules blancs et le plasma pour cryopréservation.

1. À l'endroit désigné par la banque pour le traitement du sang, fractionner le sang entier ( le sang collecté dans les tubes contenant un anticoagulant comme le EDTA ou l'héparine) en centrifugeant à 1500-2000 x g pour 15 minutes à la température de la pièce. Ceci séparera le sang en 3 couches visibles (voir figure 1) :
  - La couche supérieure est généralement claire et de couleur jaune pâle.
  - La seconde couche est une étroite bande d'interface grisâtre représentant la couche de globules blancs ou la fraction des leucocytes.
  - La troisième couche est rouge foncé et est constituée d'érythrocytes ou de cellules rouges.
2. En utilisant la pipette de transfert jetable appropriée, aspirer la couche de plasma jusqu'à approximativement 1mm de la couche de globules blancs. Prendre soin de ne pas déranger la couche de globules blancs.
3. Expulser tout le plasma de la pipette dans un tube de collecte de plasma.
4. Aliquoter le plasma récupéré et placer dans des cryotubes étiquetés.

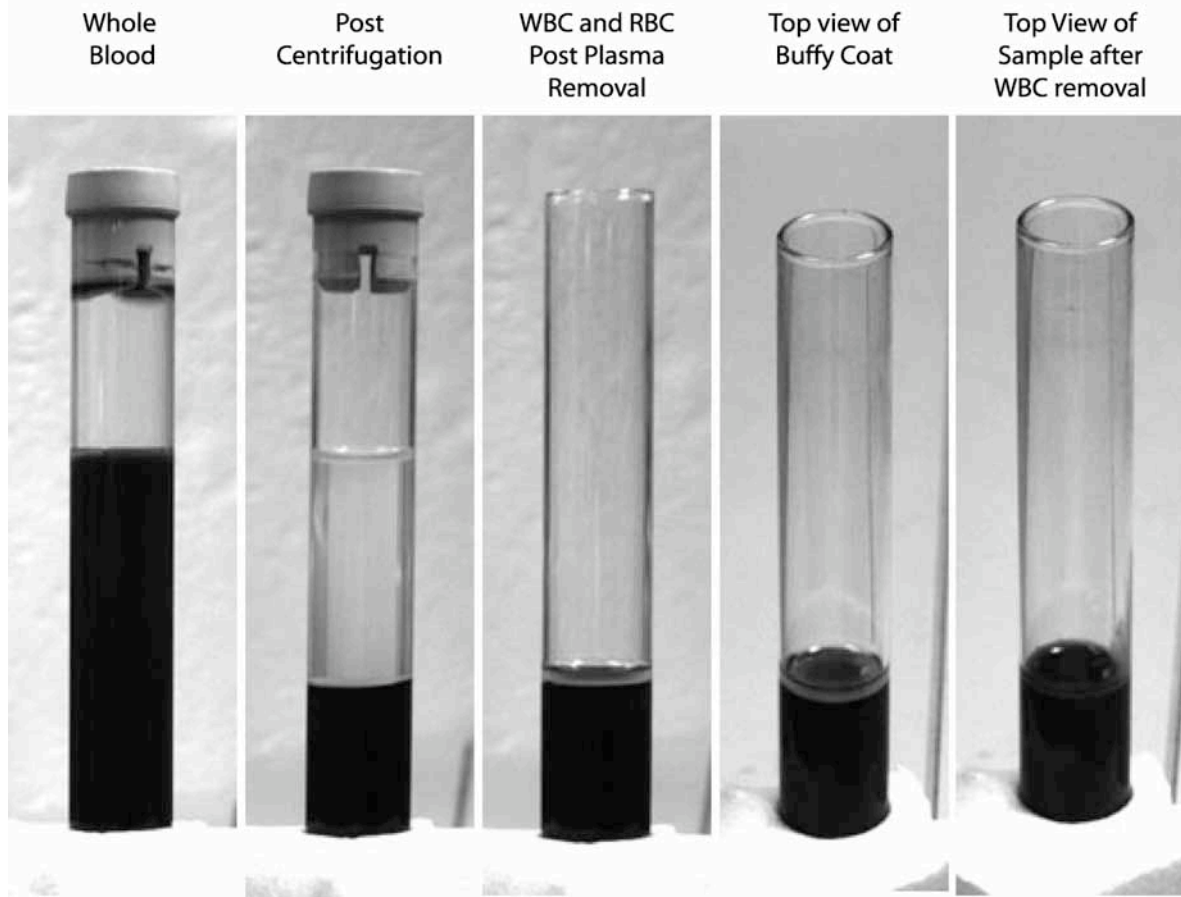
5. Placer les cryotubes dans de la glace sèche ou de l'azote liquide pour un entreposage congelé.
6. Transférer les cryotubes dans une boîte d'entreposage pour congélateur et placer cette boîte immédiatement dans un congélateur à  $-80^{\circ}\text{C}$  ou dans l'azote liquide.
7. Enregistrer la position et la localisation des tubes.

## Appearance of Blood Samples during Recovery of WBCs



**Figure 1: Échantillon de sang**

## Appearance of Blood Samples during Recovery of WBCs



### 7.4 Récupération des cellules blanches du sang

La fraction cellulaire peut être traitée directement pour l'ADN ou l'ARN ou traitée tel que décrit ci-après pour obtenir la fraction de globules blancs et plasma pour cryopréservation.

1. Après avoir enlevé la couche de plasma, utiliser une pipette de transfert pour aspirer toute la couche de globules blancs (généralement un volume de 0.5ml ou moins).
2. Expulser la couche de globules blancs dans un seul cryotube. Mélanger l'échantillon, en prendre la moitié et entreposer dans un cryotube séparé.
3. Placer les cryotubes dans la glace sèche ou l'azote liquide pour entreposage congelé.

4. Transférer les cryotubes dans une boîte d'entreposage pour congélateur et placer la boîte immédiatement dans un congélateur à  $-80^{\circ}\text{C}$  ou dans l'azote liquide.
5. Enregistrer la position et la localisation des tubes.
6. Si le sang a été collecté dans des tubes de collecte spécifiques pour l'extraction de l'ADN ou de l'ARN, alors procéder en suivant les procédures établies pour le traitement et l'extraction de l'ADN et l'ARN.

### **7.5 Séparation du sérum à partir des échantillons de sang**

1. Si le sérum doit être obtenu des échantillons sanguins, collecter le sang dans des tubes à sérum. Les tubes à sérum sont recouverts avec des particules comme du silice qui agit comme un activateur coagulant.
2. Inverser les tubes 8 fois immédiatement après la collecte pour assurer une coagulation efficace.
3. Incuber les tubes du mélange de sérum pendant 1 heure à température de pièce pour assurer une coagulation complète.
4. Préparer la quantité requise de cryotubes de 2 ml pour être utilisés pour l'entreposage du sérum avec les étiquettes adéquates sur chaque tube.
5. Après l'incubation, centrifuger les tubes de sérum à 1500 g pour 15 minutes.
6. Aspirer le surnageant et transférer directement dans les cryotubes étiquetés.
7. Transférer les tubes dans une boîte d'entreposage pour congélateur et placer la boîte dans un congélateur à  $-80^{\circ}\text{C}$  ou dans l'azote liquide.
8. Enregistrer la position et la localisation des tubes dans le contenant d'entreposage.

### **7.6 Enregistrement des échantillons**

1. Enregistrer les échantillons de plasma, de sérum et de couche de globules blancs dans la base de données ou le système d'inventaire de la banque comme dans les procédures établies et fixer les étiquettes appropriées sur les tubes.

## **8.0 RÉFÉRENCES APPLICABLES, RÈGLEMENTS ET GUIDES**

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](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](http://www.ndoc.org/about_ndc/reports/NBN_comment.asp)
  7. Blood Collection: Routine Venipuncture and Specimen Handling. <http://medlib.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/PHLEB/PHLEB.html>



## Annexe 1.

### Formulaire (Feuille de travail pour la collecte/traitement du sang)

La feuille de travail de collecte/traitement du sang peut être rédigée pour prendre l'information de manière spécifique à chaque site.

Ce qui suit peut être utilisé comme guide pour les groupes d'information à enregistrer :

#### Collecte du sang

Site de la collecte	
Date du prélèvement du sang	
Heure du prélèvement du sang	
Date où l'échantillon a été reçu au laboratoire	
Heure où l'échantillon a été reçu au laboratoire	
Nom de la personne qui a effectué le prélèvement	
Notes additionnelles concernant la collecte:	

#### Information sur l'échantillon

Étiquette du tube (Identifiant unique)	Type de tube	Tube Lot#	Volume (ml)

#### Carte filtre d'ADN (si utilisé)

Identifiant unique	Type de carte	Technicien de laboratoire	Date et heure	Carte Lot#	# de spots

#### Traitement du plasma

**Traité par:** Nom du technicien

**Centrifugation:** Durée de la centrifugation, force G, température

**Temps entreposé dans le transporteur:**

**Tubes de plasma obtenus:**

Numéro du tube de plasma	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
Volume				
Emplacement d'entreposage				

#### Traitement du sérum

**Traité par:** Nom du technicien

**Centrifugation:** Durée de la centrifugation, force G, température

**Temps entreposé dans le transporteur:**

**Tubes de plasma obtenus:**

<b>Numéro du tube de sérum traité</b>	<b>Tube 1</b>	<b>Tube 2</b>	<b>Tube 3</b>	<b>Tube 4</b>
<b>Volume</b>				
<b>Emplacement d'entreposage</b>				

**Traitement de la couche de globules blancs**

**Traité par:** Nom du technicien

**Centrifugation:** Durée de la centrifugation, force G, température

**Temps entreposé dans le transporteur:**

**Couche de globules blancs «Buffy Coat» (cellules blanches du sang) Tubes obtenus:**

<b>Numéro du tube de couche de globules blancs</b>	<b>Tube 1</b>	<b>Tube 2</b>	<b>Tube 3</b>	<b>Tube 4</b>
<b>Volume</b>				
<b>Emplacement d'entreposage</b>				