


Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT Traitement et entreposage du sang			
Catégorie:	Manipulation du matériel biologique - sang		
Numéro de PNF:	08.02.002	Version:	f2.0
Remplace:	8.2.002 f1.0	Date d'entrée en vigueur:	
Approuvée par:	Comité administratif du RCBT (CAR)	01 mai 2012	
	Par: Brent Schacter 	13 juin 2012	

## 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 à 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.

## 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 DU RCBT

Remarque: Lors de l'adoption de cette PNF pour un usage local, s'il vous plaît faire référence au RCBT.

- 3.1 *Politique du RCBT: POL 5 Registres et documentation*
- 3.2 *Politique du RCBT: POL 2 Éthique*
- 3.3 *Politique du RCBT: POL 4 Vie privée et sécurité*
- 3.4 *Politique du RCBT: POL 7 Manipulation du matériel et de l'information*
- 3.5 *Procédure normalisée de fonctionnement: PNF 08.01.002 Gestion des déchets du matériel à biorisque*
- 3.6 *Procédure normalisée de fonctionnement: PNF 08.02.001 Collecte du sang*
- 3.7 *Procédure normalisée de fonctionnement: PNF 06.003 Immunisation et rapport d'accidents personnels*

## 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
Assistant de recherche	Transport, traitement et entreposage du sang et de ses produits dérivés

## 5.0 MATÉRIEL, ÉQUIPEMENT 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 contenant EDTA)	Tubes 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	
Feuille 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

Voir le glossaire du programme du RCBT: <http://www.ctrnet.ca/glossary>

## 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

## Traitement et entreposage du sang

- 7.1.1 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.
- 7.1.2 L'exigence de certains délais pour le traitement des échantillons dépend de l'usage prévu et conséquemment, le temps du traitement doit être enregistré.

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

Le cas échéant, 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 Archivage des échantillons

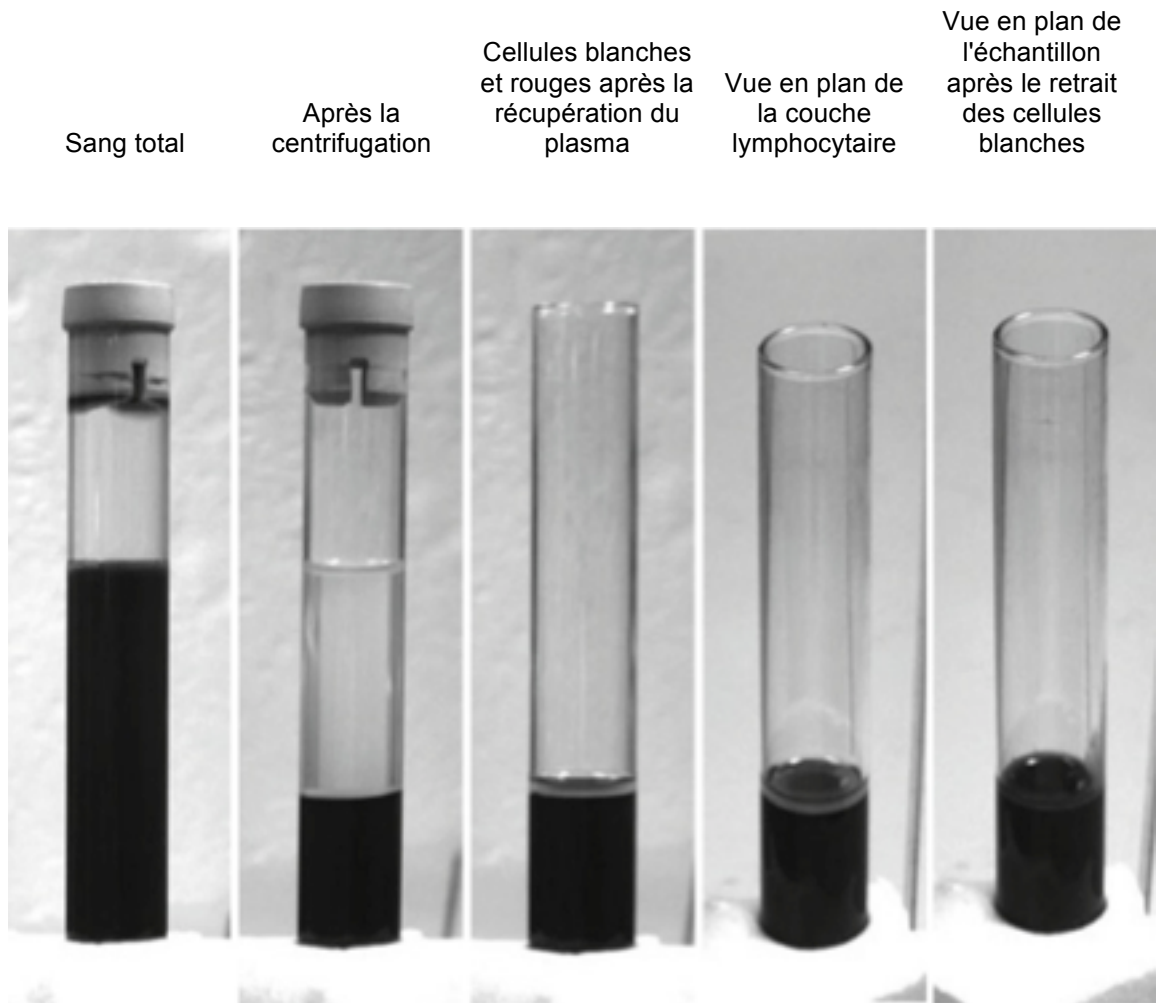
Archiver le plasma, le sérum et la couche lymphocytaire dans le système d'inventaire de la biobanque selon la procédure établie spécifiquement au site et apposer les étiquettes appropriées sur les tubes.

### 7.4 Séparation du plasma à partir de la fraction cellulaire

Le sang total peut être traité directement pour l'ADN ou l'ARN ou traité tel que décrit ci-après pour obtenir la fraction de globules blancs et plasma pour cryopréservation.

- 7.4.1 À l'endroit désigné par la biobanque pour le traitement du sang, séparer le sang total (sang collecté dans les tubes contenant un anticoagulant tel l'acide éthylène-diamine tétraacétique -EDTA par centrifugation à 1500-2000 x g pendant 15 minutes à température de la pièce. Ce processus séparera le sang en trois couches visibles (voir figure 1) :
  - a) La couche supérieure est généralement claire et de couleur jaune pâle.
  - b) La seconde couche est une étroite bande d'interface grisâtre représentant la couche de globules blancs ou la fraction des leucocytes.
  - c) La troisième couche est rouge foncé et est constituée d'érythrocytes ou de cellules rouges.
- 7.4.2 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.
- 7.4.3 Expulser tout le plasma de la pipette dans un tube de collecte de plasma.
- 7.4.4 Aliquoter le plasma récupéré et placer dans des cryotubes étiquetés.
- 7.4.5 Placer les cryotubes dans les contenants d'entreposage appropriés. Pour un entreposage de longue durée, la température recommandée est -80C ou plus basse.
- 7.4.6 Enregistrer la position et la localisation des tubes.

## Aspect des échantillons de sang durant la récupération des globules blancs



**Figure 1: Échantillons de sang durant la récupération des cellules blanches**

### 7.5 Récupération des cellules blanches du sang

- 7.5.1 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).
- 7.5.2 Expulser la couche de globules blancs dans un seul cryotube. Mélanger l'échantillon, en prendre la moitié et entreposer dans un cryotube séparé.
- 7.5.3 Placer les cryotubes dans les unités d'entreposage appropriées. Pour un entreposage de longue durée, la température recommandée est -80C ou plus basse.
- 7.5.4 Enregistrer la position et la localisation des tubes.

### 7.6 Séparation du sérum à partir des échantillons de sang

- 7.6.1 Si le sérum doit être obtenu des échantillons sanguins, collecter le sang dans les tubes appropriés.

## Traitement et entreposage du sang

- 7.6.2 Pour les tubes non pourvus de gel de séparation, inverser les tubes 8 fois immédiatement après la collecte pour assurer une coagulation efficace.
- 7.6.3 Incuber afin d'assurer une coagulation complète. Une période d'incubation d'une heure est recommandée.
- 7.6.4 Préparer la quantité requise de cryotubes de 2 ml pour être utilisés pour l'entreposage du sérum avec les étiquettes adéquates sur chaque tube.
- 7.6.5 Après l'incubation, centrifuger les tubes de sérum à 1500 g pour 15 minutes.
- 7.6.6 Aspirer le surnageant et transférer directement dans les cryotubes étiquetés.
- 7.6.7 Placer les cryotubes dans les unités d'entreposage appropriées. Pour un entreposage de longue durée, la température recommandée est -80C ou plus basse.
- 7.6.8 Enregistrer la position et la localisation des tubes dans l'unité d'entreposage.

### 7.7 Processus alternatif pour les échantillons de sang

Si le sang a été collecté dans des tubes spécifiques conçus pour l'extraction de l'ADN ou de l'ARN, suivre la procédure établie par la compagnie pour l'extraction de l'ADN ou de l'ARN.

## 8.0 RÉFÉRENCES, RÈGLEMENTS ET DIRECTIVES

- 8.1 Déclaration d'Helsinki.  
<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>
- 8.2 Tri-Council Policy Statement 2; 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, December 2010.  
<http://www.pre.ethics.gc.ca/eng/policy-politique/initiatives/tcps2-eptc2/Default/>
- 8.3 Human Tissue and Biological Samples for use in Research. Operational and Ethical Guidelines. Medical Research Council Ethics  
<http://www.mrc.ac.uk/Utilities/Documentrecord/index.htm?d=MRC002420>
- 8.4 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/Search/search.asp?zoom\\_query=best+practices+for+repositories](http://www.isber.org/Search/search.asp?zoom_query=best+practices+for+repositories)
- 8.5 US National Biospecimen Network Blueprint  
<http://biospecimens.cancer.gov/resources/publications/reports/nbn.asp>
- 8.6 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>
- 8.7 Blood Collection: Routine Venipuncture and Specimen Handling.  
<http://library.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/PHLEB/PHLEB.html>

## 9.0 ANNEXES

9.1 Annexe A – Feuille de travail pour la collecte et le traitement du sang

## 10.0 HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Numéros des PNFs	Dates des modifications	Auteurs	Résumé des modifications
LP 001.001	2005		PNF générique du RCBT pour la collecte et le traitement du sang.
8.2.002	2008		Révision pour couvrir le traitement du sang seulement.
8.2.002 e1.0	Juin 2012	CMG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grammaire et mise en page</li> <li>• Retrait des définitions</li> <li>• Historique des révisions déplacé au bas du document</li> <li>• Mise à jour des liens pour les références</li> <li>• Mise à jour des références aux PNFs</li> <li>• Section 1.0: Délétion de la dernière phrase.</li> <li>• Section 7.1.2: Révision</li> <li>• Insertion de la section 7.6 après 7.2</li> <li>• Révision des procédures des sections 7.4 et 7.5</li> </ul>

## Feuille de travail pour la collecte et le 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 (tube)

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

### Carte filtre d'ADN (si utilisée)

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 sérum obtenus :

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

**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:**

**Tubes de couches de globules blancs "buffy coat" obtenus :**

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