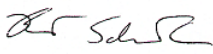


Procédure normalisée de fonctionnement Congélation en tubes du tissu			
Numéro de PNF:	08.03.003	Version:	f2.0
Remplace:	8.3.003 e1.0	Catégorie:	Manipulation et documentation du matériel– Tissu solide
Approuvé par:	Le groupe administratif du RCBT (GAR)	01 Juin 2012	
	Par: Brent Schacter 	28 Juin 2012	

## 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. Des procédures similaires peuvent être adoptées pour d'autres tissus d'intérêt qui peuvent être collectés par la biobanque pendant la chirurgie (tels que des tissus non malins à distance ou adjacents à la tumeur, des ganglions lymphatiques, des échantillons de muscle, etc.); il faut cependant documenter clairement si les procédures diffèrent dans le cas des échantillons non-malins.

## 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 OU 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 Éthiques*
- 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 du RCBT: PNF 08.03.001 Collecte et acheminement du tissu*
- 3.6 *Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT: PNF 08.03.002 Prise en charge du tissu*
- 3.7 *Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT: PNF 08.03.003 Gestion des déchets à biorisques*

#### 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
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	
Pincettes propres	
Scalpels propres pour couper le tissu	
Azote liquide	
2-Méthylbutane (isopentane) (optionnel)	
Contenant pour isopentane (optionnel)	
Ampoules à congélation étiquetées pour entreposage des tissus congelés (couvercle vissé)	
Étiquettes appropriées suffisantes (voir PNF # 8.1.001) pour ampoules à congélation	
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 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

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

## 7.0 PROCEDURES

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

- 7.1.1 Traiter tous les tissus comme potentiellement infectieux.
- 7.1.2 La congélation est effectuée par un technicien de laboratoire ou une personne formée et désignée par la banque de tumeurs.
- 7.1.3 Avoir le matériel et l'équipement prêts. Avoir la quantité nécessaire d'ampoules de congélation étiquetées et prêtes.
- 7.1.4 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.
- 7.1.5 Ne pas congeler le tissu directement sur la glace.
- 7.1.6 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.
- 7.1.7 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.

**Choisir entre les étapes 7.1.8 à 7.1.10 (congélation en tubes avec isopentane) ou l'étape 7.1.11 (congélation en tubes avec l'azote liquide):**

- 7.1.8 Refroidir l'isopentane en suspendant son contenant dans de l'azote liquide. L'isopentane est suffisamment refroidi lorsque des "perles" se forment et que la solution devient trouble.
- 7.1.9 À l'aide de pinces propres, placer le spécimen à être congelé dans des ampoules à congélation vides et à couvercles qui vissent. Fermer les ampoules à congélation.
- 7.1.10 Placer les ampoules à congélation avec le spécimen dans le contenant d'isopentane refroidi. Le spécimen devrait être congelé à l'intérieur de 30 secondes.

**ou**

- 7.1.11 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.

**Par la suite :**

- 7.1.12 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).
- 7.1.13 Les échantillons devraient être placés sur glace sèche lorsqu'ils sont transportés au congélateur ou aux installations d'azote liquide.
- 7.1.14 Dans l'azote liquide, il est recommandé que les échantillons soient placés en phase vapeur de l'azote liquide. Remarque: la température de transition du verre pour l'eau est -134° C. Pour cette raison, les échantillons destinés à un entreposage indéterminé devraient être gardés à des températures inférieures à -135° C.
- 7.1.15 Enregistrer le lieu d'entreposage.
- 7.1.16 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

- 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 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.

8.8 Guideline – Fresh Tissue Working Group of BIG and NCI breast cancer Cooperative Groups

## 9.0 ANNEXES

9.1 Annexe A – Formulaire pour échantillon – Feuille de travail pour la collecte/prise en charge d'un échantillon

## 10.0 HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Numéros des PNFs	Dates des modifications	Auteurs	Résumé des modifications
LP 002.001	2005	JdSH	PNF générique du RCBT pour la collecte et le traitement du tissu tumoral
8.3.003	2008	JdSH	Révision pour couvrir uniquement la collecte du tissu
8.3.003	2011	MMA	Section 5: Le matériel pour l'isopentane est optionnel Section 7: Changement de la procédure de travail pour clarifier que l'utilisateur peut choisir soit l'isopentane ou l'azote liquide pour la congélation en tube. Étape 14 : Ajout de texte pour suggérer une température de congélation plus basse pour l'entreposage indéterminé basée sur la transition du verre. Section 8: Référence à EPTC2
8.3.003	2012	SD	Mention du programme/comité et non d'un individu; application de cette modification pour toutes les PNFs de cette section.
8.3.003 f1.0	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 – Ajout de la dernière phrase de cette section.</li> <li>• Section 5.0-Remarque de l'option du matériel.</li> <li>• Section 7.7- Insertion de "Choisir les étapes..."</li> <li>• Section 7.14 – Insertion de la remarque</li> </ul>

## FORMULAIRE POUR ÉCHANTILLON – Feuille de travail pour collecte et prise en charge du tissu

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: