Procédure normalisée de fonctionnement Congélation du tissu dans l'OCT (Optimal Cutting Temperature)			
Numéro de PNF:	08.03.004	Version:	f2.0
Remplace:	8.3.004 f1.0	Catégorie:	Manipulation et documentation du matériel – Tissu solide

Approuvée par:	Le groupe administratif du RCBT (GAR)	01 juin 2012
	Par: Brent Schacter	28 juin 2012

1.0 INTENTION

Les échantillons de tissus (excédents au besoin de la pathologie) sont collectés de patients qui ont donné leur consentement éclairé et accepté de participer au programme de banque de tumeurs. Les collections de tissus fraîchement congelés représentent une ressource importante pour la recherche. Les tissus tumoraux conviennent aux études protéomiques et génomiques seulement s'ils ont été cryopréservés dans un temps et de manière appropriés. L' "Optimal cutting temperature" (OCT) est un composé adéquat pour préserver l'ultrastructure cellulaire (histologie) aussi bien que les acides nucléiques. Il est également utilisé pour des applications spécialisées dans lesquelles l'utilisation du tissu fixé au formol n'est pas optimale.

2.0 PORTÉE

Cette procédure normalisée de fonctionnement (PNF) décrit comment les tissus sont congelés dans l'OCT. 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 PNFs ET POLITIQUES 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 07 Manipulation du matériel et de l'information*
3.5 *Procédure normalisée de fonctionnement du RCBT: PNF 08.03.001 Collecte et transport 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 08.01.002 Gestion des déchets 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 dans l'OCT des tissus collectés.

Personnel de la banque de tumeurs	**Responsabilité/rôle**
Assistant pathologiste	Assister la résection et le transport du tissu. Communiquer avec le technicien du laboratoire.

Copyright©2012 Réseau canadien de banques de tumeurs (RCBT).

Technicien de laboratoire	Prendre en charge, transporter, traiter le tissu tumoral et l'entreposer

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)**
Contenant avec glace sèche (pour le transport du tissu congelé)	
Marqueurs, encre et crayons	
Pinces propres	
Scalpels propres pour le découpage du tissu	
Milieu de congélation **OCT** (Optimal Cutting Temperature)	
Azote liquide	
2-Methylbutane (isopentane)	
Contenant pour isopentane	
Cryotubes étiquetés pour l'entreposage des tissus congelés (couvercle vissé)	
Cryomoules en plastique (comme le Tissue-Tek :#4557)	
Petits sacs «zip lock» étiquetés pour l'entreposage des cryomoules	
Suffisamment d'étiquettes appropriées (voir PNF # 8.1.001) pour ampoules à congélation, moules et sacs de plastique.	
Contenant d'entreposage pour les cryomoules	
Glace sèche ou vase de Dewar pour le transport de l'azote liquide	
Unité de récupération pour les aiguilles/objets tranchants	
Gants jetables pour protéger le personnel qui manipule le tissu	
Verres de sécurité pour le personnel manipulant les réservoirs d'azote liquide et les contenants d'entreposage	
Gants isolants pour la manipulation des réservoirs d'azote liquide et des contenants d'entreposage.	
Recouvrements propres pour couvrir la surface de travail	
Composé « Optimal Cutting Temperature » (OCT)	

Copyright©2012 Réseau canadien de banques de tumeurs (RCBT).

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 tissus obtenus des participants consentants sont traités de manière sécuritaire et efficace tout en éliminant les risques de contamination. Afin de faciliter l'utilisation des techniques innovatrices en génomique et en protéomique, la congélation adéquate des tissus mis en banque est primordiale pour obtenir des produits avec une haute intégrité et de qualité.

7.1 Congélation du tissu dans l'OCT

7.1.1 Traiter tous les tissus comme potentiellement infectieux.

7.1.2 La congélation doit être effectuée par un technicien de laboratoire ou du personnel formé et désigné par la banque de tumeurs.

7.1.3 Avoir le matériel et l'équipement prêts. Avoir la quantité nécessaire d'ampoules à congélation et de cryomoules étiquetés et prêts.

7.1.4 À moins d'avoir l'intention d'utiliser une autre méthode de préservation, le tissu tumoral frais doit être congelé le plus rapidement possible. De façon optimale, le tissu doit être congelé dans les 30 minutes suivant la résection.

7.1.5 Ne pas congeler le tissu directement sur la glace.

7.1.6 S'assurer que le tissu prélevé ne se dessèche jamais ou ne soit contaminé avec les tissus environnants ou avec d'autres échantillons. Utiliser des scalpels et des pinces propres entre les échantillons afin d'éviter la contamination croisée entre les échantillons ou entre la tumeur et le tissu normal.

7.1.7 Les tissus rapidement congelés sont appropriés à la préparation d'ADN et d'ARN. Il est spécifiquement utile de préserver le tissu frais à l'intention de l'histopathologie quand l'information morphologique est importante. Ne pas placer l'échantillon en contact avec du formol à aucun moment du processus. Ne pas ajouter de sérum à l'échantillon.

7.1.8 Refroidir l'isopentane en suspendant son contenant (50ml) dans l'azote liquide. L'isopentane est suffisamment refroidi quand des "perles" se forment et que la solution devient trouble.

7.1.9 Placer quelques gouttes du composé OCT dans le cryomoule en plastique pré-étiqueté.

7.1.10 Avec des pinces propres, placer le spécimen à être congelé dans l'OCT, dans le moule. Si pertinent pour le type de spécimen tumoral, orienter le tissu dans le cryomoule.

7.1.11 Ajouter plus d'OCT pour couvrir le tissu et remplir le moule.

7.1.12 Utiliser des pinces ou une pipette de transfert pour orienter le tissu et enlever les bulles d'air.

7.1.13 Éviter d'introduire des bulles d'air dans l'OCT. Enlever toutes bulles d'air qui pourraient se retrouver autour du tissu.

7.1.14 Placer le cryomoule dans un petit récipient, contenant de l'isopentane pré-refroidi.

7.1.15 Submerger le moule dans l'isopentane jusqu'à ce que l'OCT soit complètement congelé (il deviendra blanc et solide).

7.1.16 Le cryomoule ou l'ampoule à congélation contenant le tissu et l'OCT peut être congelé directement dans l'azote liquide sans l'étape de l'isopentane. Tenir le tube ou le cryotube avec des pinces et immerger doucement le moule dans l'azote liquide contenu dans un

Copyright©2012 Réseau canadien de banques de tumeurs (RCBT).

contenant de transport permettant la congélation à partir du bas de l'ampoule à congélation ou du tube.

7.1.17 Enlever le moule de l'azote liquide.

7.1.18 Placer le moule dans un petit sac «zip-lock» étiqueté et placer le sac scellé sur glace sèche.

7.1.19 Transporter les sacs ou les tubes sur glace sèche et entreposer à -80º C ou à une température plus basse.

7.1.20 Enregistrer l'emplacement de l'entreposage.

7.1.21 Enregistrer le moment de l'entreposage sur la feuille de travail pour la collecte et la prise en charge du tissu (voir annexe 1). Déterminer le temps écoulé entre la résection et la congélation et enregistrer ces informations le plus précisément possible. Au mieux, enregistrer le temps approximatif (au 15 minutes près) à partir de la résection jusqu'à ce que le tissu soit congelé (ex : à l'intérieur de 30minutes, entre 30 et 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

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. 2002, Analysis of the Molecular Quality of Human Tissues, an experience from the Cooperative Human Tissue Network. Am. J. Clin. Pathol.118: 733-741.

8.8 SOP-PRO-Tissue-freezing.02, Oct 3, 2006. Freezing of Prostate Tissues. Procure Quebec Prostate Cancer Biobank.

8.9 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 collecte /prise en charge du tissu

Copyright©2012 Réseau canadien de banques de tumeurs (RCBT).

10.0 HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Numéro de PNF	Date des modifications	Auteur	Résumé des révisions
LP 002.001	08-08-2005	JdSH	PNF générique du RCBT pour la collecte et le traitement des tissus tumoraux
8.3.004	08-01-2008	JdSH	Révision pour couvrir uniquement la congélation des tissus par OCT
8.3.004 f1.0	Juin 2012	CMG	• Grammaire et mise en page • Retrait des définitions • Historique des révisions déplacé au bas du document • Mise à jour des liens pour les références • Mise à jour des références aux PNFs • Section 1.0: Insertion de "Optimal cutting temperature" et délétion de la dernière phrase du paragraphe

Copyright©2012 Réseau canadien de banques de tumeurs (RCBT).

Formulaire pour échantillon – Feuille de travail pour la collecte et la prise en charge du tissu

La feuille de travail de la collecte des échantillons peut être élaborée par les personnes aux sites spécifiques pour accéder à l'information pertinente au site. Ce qui suit peut être utilisé comme guide pour saisir les informations à être enregistrées:

Collecte et transport des tissus

Lieu de collecte	
Date de résection de la tumeur	
Heure de la résection de la tumeur	
Date de la réception de l'échantillon au laboratoire de pathologie	
Heure de la réception de l'échantillon au laboratoire de pathologie	
Nom de la personne qui a transporté le tissu	
L'échantillon a-t-il été transporté sur glace?	OUI NON
Pathologiste (Nom)	
Notes de collecte additionnelles:	

Information sur l'échantillon

Étiquette (Identifiant unique)	**Type de tissu**	**Le tissu normal correspondant était-il disponible et a-t-il été pris?**	**Taille de la tumeur**	**Observation sur le tissu**

Prise en charge du tissu
Décongelé par: Nom du technicien
Heure et date de la cueillette: Très important d'enregistrer cette information

Indiquer si le tissu a été recuilli pour:

1. Collecte de tissu fraîchement congelé.

Étiquette (identifiant)	**Congelé dans tube par :**	**Date de la congélation**	**Heure de la congélation**	**Taille de l'échantillon**	**Emplacement de l'entreposage**

2. Congélation dans l'OCT

Étiquette (identifiant)	**Congelé dans vial par :**	**Date de la congélation**	**Heure de la congélation**	**Taille de l'échantillon**	**Emplacement de l'entreposage**

3. Fixé dans formol. Oui Non
Date: Emplacement de l'entreposage:

4. Entreposé sous une autre forme (ex. dans RNAlater®) Oui Non
Date: Emplacement de l'entreposage

Copyright©2012 Réseau canadien de banques de tumeurs (RCBT).