

MEJORAR LA TOMA DE MUESTRAS PARA LA INVESTIGACIÓN TRANSLACIONAL EN ENSAYOS INTERNACIONALES

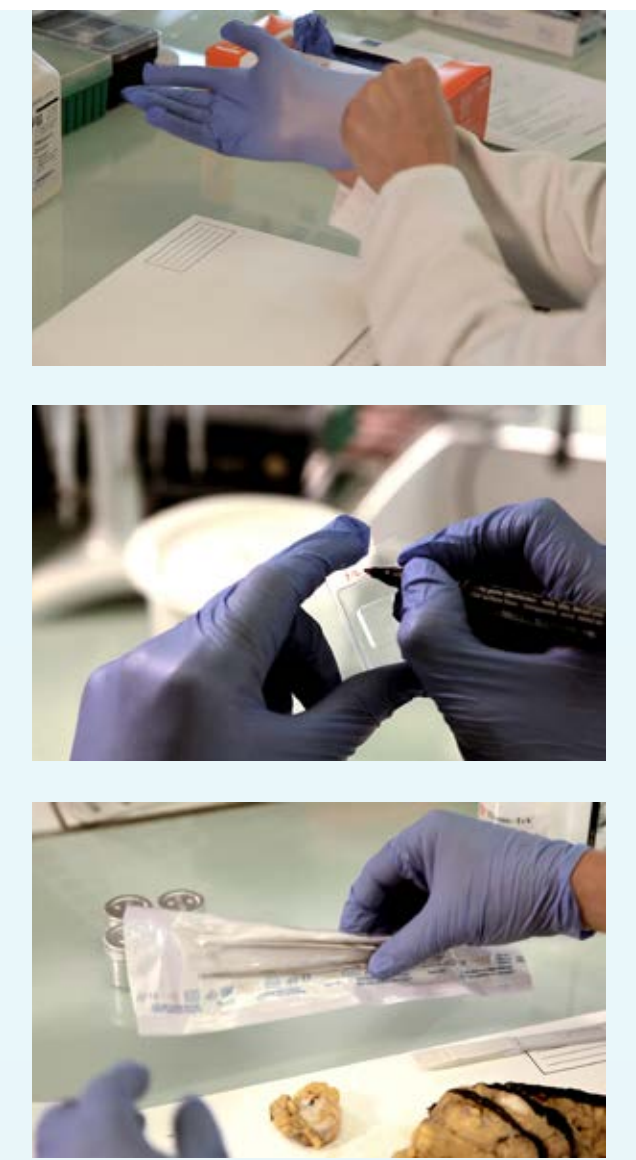


Informaciones importantes:

- Antes de realizar la toma de muestras, es importante informar a todo el personal que participa en este proceso: incluyendo a los cirujanos, personal de enfermería o personal de radiología, según el tipo y el origen de los tejidos que se deseen recopilar.
- Es importante que el personal que participa en el proceso se haya asegurado primero de que el paciente ha dado su consentimiento para la recopilación de tejidos para fines de investigación.

Recomendaciones importantes:

- Utilice siempre guantes
- Utilice instrumentos esterilizados libres de ADNasa y ARNasa.
- No utilice el mismo instrumento para tomar muestras de tejido normal y tumoral, respectivamente.
- No tome muestras macroscópicamente de zonas de avanzada necrosis.
- Si toma muestras de tejido normal, por favor tome la muestra lo más lejos posible del tumor; evite tomar una muestra únicamente de grasa como tejido normal (a menos que esté previsto).
- No tome nunca una muestra para su estudio sin consultar primero al patólogo y verificar que cuenta con el consentimiento informado del paciente.



Una vez tomada la muestra:

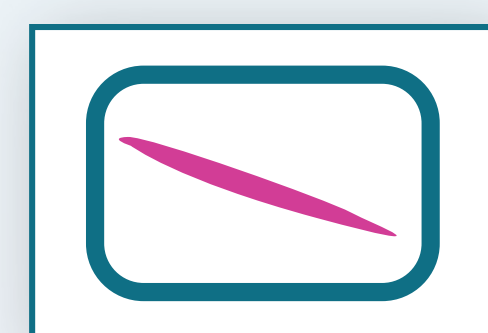
- Envíe inmediatamente la muestra al laboratorio. Es fundamental que se limite al mínimo el tiempo de isquemia fría, preferiblemente menos de 30 minutos desde el momento de la toma.
- Lo mejor es que el intervalo de tiempo entre la toma de la muestra y la congelación de los tejidos se registre en tiempo real.
- El vial debe etiquetarse claramente, utilizando un identificador único para cada paciente, con tinta resistente al frío y a la humedad.
- Resulta esencial garantizar que la muestra no se presiona ni se fragmenta tras la fase de recopilación. Manipule siempre el tejido con extremo cuidado.

¡Utilice el principio de las imágenes especulares para cortar las muestras!

- Esto significa por tanto que una sección de corte se utiliza para la evaluación de la morfología, y las secciones adyacentes a ambos lados del corte se congelan, procediendo a su fijación e inclusión en parafina respectivamente.
- Las imágenes especulares son importantes para evitar la heterogeneidad entre una muestra congelada y su correspondiente muestra fijada del mismo tumor.



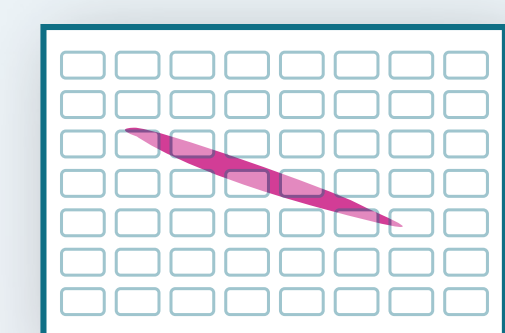
1. CONGELAR



2. MORFOLOGÍA



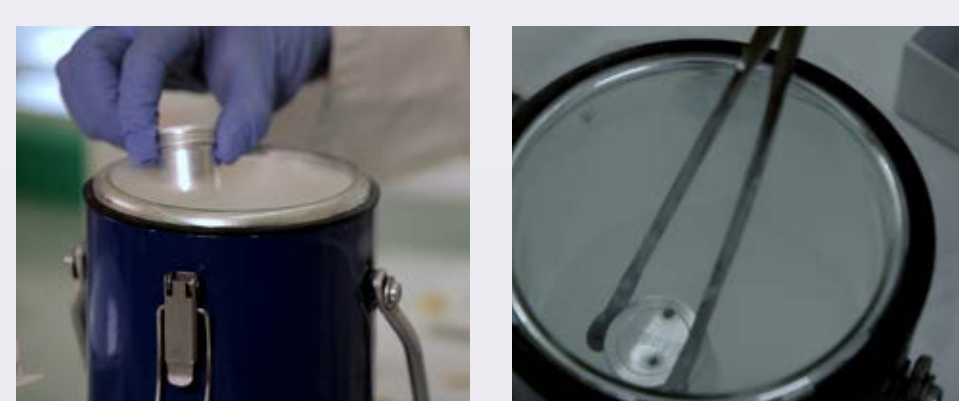
3. FFIP



Fijado en formol e incluido en parafina

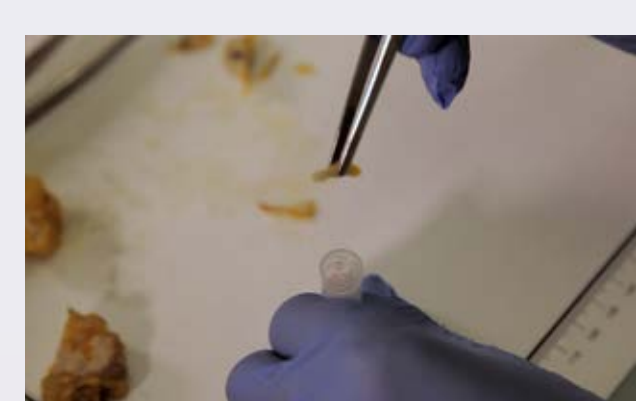
Hay 3 opciones para congelar la muestra:

UTILIZANDO NITRÓGENO LÍQUIDO:



- El tejido se congela rápidamente en nitrógeno líquido a temperaturas entre -160 y -190°C antes de transferirlo al congelador a -80°C.
- La principal desventaja de este método es el riesgo de quemadura por congelación.
- + La principal ventaja es que es fácil y relativamente rápido.

UTILIZANDO RNA-LATER:



- En primer lugar se coloca la muestra en una solución de RNAlater.
- La muestra puede almacenarse a temperatura ambiente o incluso a 4-5°C en el frigorífico durante varios días antes de ser transferida al congelador a -20°C durante varias semanas, antes de ser de nuevo transferida al congelador a -80°C.
- Esta acomodación gradual de los tejidos a temperaturas cada vez más bajas es la opción que nos parece más adecuada. El tamaño de la muestra debe ser limitado para garantizar que el RNAlater penetra correctamente.
- Entre las principales desventajas de este método destacamos las enormes dificultades para evaluar la morfología y, en especial la infiltración linfocítica.
- + Las principales ventajas incluyen la excelente conservación del ARN; además no se necesita hielo seco ni nitrógeno líquido y es un método muy fácil de utilizar

UTILIZANDO OCT:



- El tejido debe estar cubierto de OCT como medida de crio-protección, antes de ser trasladado al congelador a -80°C.
- Es importante que todo el tejido esté plenamente sumergido en OCT, para evitar cualquier contacto del tejido con el aire.
- La muestra del tejido debe ser completamente plana y cubierta con OCT sin poner demasiado.
- La muestra se almacena a continuación en el congelador a -80°C.
- + La principal ventaja de este método es que protege contra posibles quemaduras por congelación en la piel; la morfología se conserva adecuadamente y se evitan los posibles ciclos de congelación-descongelación en el traslado de la muestra de un depósito de almacenamiento a otro.
- Una gran desventaja sin embargo es que este método puede inhibir las reacciones PCR.

Fijar los tejidos en formol:

- Póngase siempre los guantes.
- Limite el tiempo de isquemia fría tanto como sea posible, ¡para ello, ponga los núcleos o las muestras en fijador lo antes posible!
- Si utiliza un fijador, el formol tamponado es uno de los fijadores más usados. Por favor, utilice formol tamponado para garantizar una fijación adecuada de las muestras.
- Si utiliza otro fijador que no sea formol, ¡le rogamos que lo valide antes de que su equipo se acostumbre al uso rutinario de este nuevo fijador. Finalmente, no olvide que lo mejor es limitar el tiempo de fijación de 6-48h. Tanto el exceso como el defecto de fijación pueden ser perjudiciales para los epítomos.

Una vez realizada la toma de muestras:

- Por favor, efectúe un control de calidad, como mínimo dos veces al año, del ADN, ARN y proteínas de al menos un 1% aleatorio de las muestras, tanto de las muestras utilizadas para el diagnóstico como para la investigación.
- Le rogamos que considere el uso de hielo seco a la hora de transferir muestras de un depósito a otro para evitar que se produzcan ciclos de congelación-descongelación en la misma muestra.
- No olvide asegurarse de que todos los equipos utilizados han sido previamente validados, según corresponda.
- Le recomendamos encarecidamente que supervise constantemente la temperatura de todos los frigoríficos y congeladores utilizados, a través de la instalación de una alarma instantánea asociada

Para más información, no dude en consultar nuestro Vídeo y nuestro Folleto sobre cómo manipular correctamente las muestras en: www.BIGagainstbreastcancer.org

AVISO LEGAL

Este material educativo pretende ilustrar las "Buenas Prácticas de Laboratorio" en lo que a la manipulación de las muestras en los ensayos clínicos de cáncer se refiere. Con este fin, hemos querido prestar una atención especial a los métodos utilizados con mayor frecuencia, a sabiendas de que en algunos laboratorios puede que se utilicen otras metodologías y medios de conservación y fijación, y sin pretender en ningún momento cuestionar esas otras metodologías y medios. El Breast International Group (BIG) no se responsabiliza del uso que se haga del contenido mencionado en el presente documento.

AGRADECIMIENTOS

Este material educativo ha sido elaborado gracias a una beca otorgada por la Universidad de Michigan y la Breast Cancer Research Foundation (EE.UU.). Además, nos gustaría dar las gracias a las siguientes personas e instituciones (por orden alfabético) por su valiosa colaboración: Jean-Benoît Burrión, Institut Jules Bordet (Belgium) / Ligia Craciun, Tumorbank, Institut Jules Bordet / Lorena de la Peña, Grupo Español de Estudio, Tratamiento y Otras Estrategias Experimentales en Tumores Sólidos (Spain), BIG / Dominique de Valeriola, Institut Jules Bordet / Phuong Dinh, BIG / Juergen Dittmer, Research Laboratory, Clinic for Gynecology, University of Halle-Wittenberg (Germany) / Debra Fumagalli, Breast Cancer Translational Research Laboratory, Institut Jules Bordet, BIG / José Jimenez, Molecular Oncology Laboratory, Hospital Vall d'Hebron (Spain) / Denis Larsimont, Institut Jules Bordet / Marion Maetens, Breast Cancer Translational Research Laboratory, Institut Jules Bordet, BIG / Martine Piccart, BIG, Institut Jules Bordet / Jeanne Richard, Quality Assurance Unit, Department of Pathology, Institut Jules Bordet / Roberto Salgado, Breast Cancer Translational Research Laboratory, Institut Jules Bordet, BIG / Alex Selim-Spinette, Tumorbank, Institut Jules Bordet / Carolyn Strahle, BIG / Alastair Thompson, National Cancer Research Institute Clinical Studies Group (UK), Dundee Cancer Centre (UK), BIG / Giuseppe Viale, University of Milan (Italy), European Institute of Oncology (Italy), BIG / Gunter von Minckwitz, German Breast Group (Germany), University Hospital Frankfurt & LUISENKRANKENHAUS DÜSSELDORF (Germany), BIG / Cecilia Waldvogel, BIG / Y a todos los miembros del Consejo de Administración de BIG

¿Qué hacer antes de la toma de muestras?

¿Qué hacer durante la toma de muestras?

¿Qué hacer después de la toma de muestras?

Utilice Procedimientos Normalizado de Trabajo (PNT) para documentar la metodología que decida aplicar. ¡Asegúrese que puede saberse exactamente quién ha hecho qué, cuándo y cómo!