

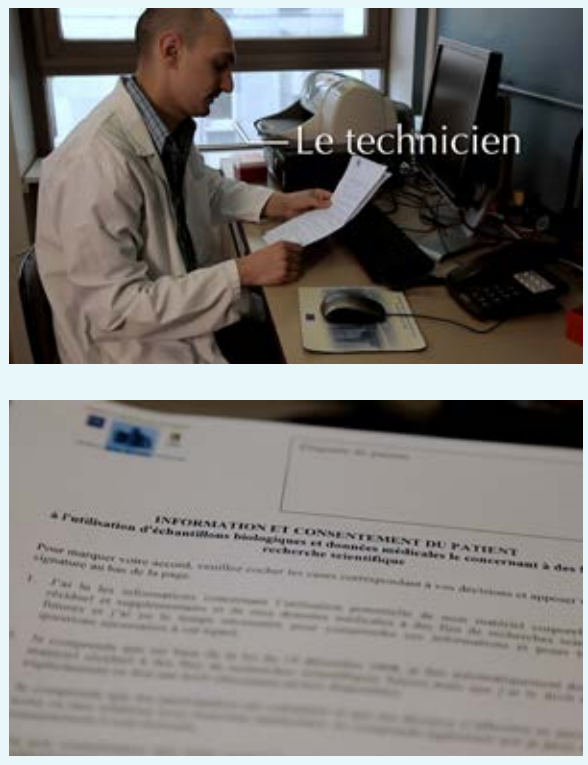
AMÉLIORER LA COLLECTE D'ÉCHANTILLONS DE RECHERCHE TRANSLATIONNELLE DANS LES ESSAIS INTERNATIONAUX

Utilisez les Procédures Opérationnelles Standard pour documenter la méthodologie utilisée. Vous devez pouvoir tracer qui a fait quoi, quand et comment !

Que faire avant l'échantillonnage ?

Que faire durant la manipulation des échantillons ?

Que faire après la manipulation des échantillons ?

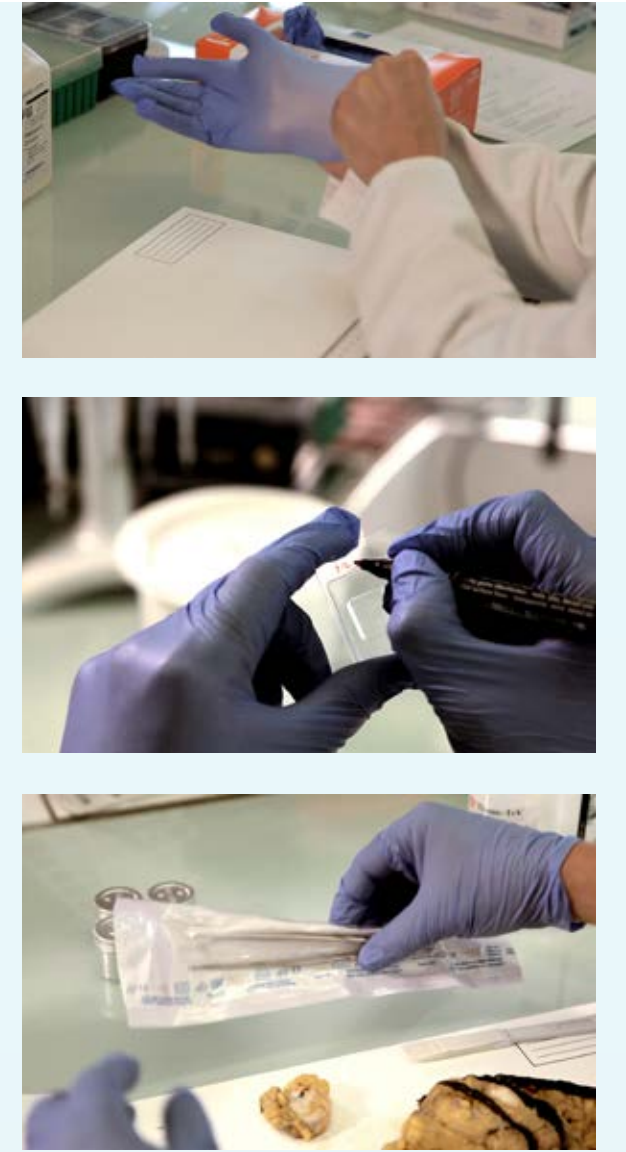


Communications importantes :

- Avant tout échantillonnage, il est important de déterminer le personnel impliqué dans le processus. Il peut s'agir des chirurgiens, du personnel soignant ou du personnel de radiologie selon le type et l'origine du prélèvement que vous voudriez effectuer.
- Il est important que le personnel impliqué se soit assuré que le patient a accordé son consentement éclairé pour le don de tissu à des fins de recherche.

Recommandations importantes :

- Portez toujours des gants.
- Utilisez des instruments stérilisés qui sont DNA-ase et RNA-ase free.
- N'utilisez pas le même instrument pour prélever respectivement du tissu normal et du tissu tumoral.
- N'échantillonnez pas les zones macroscopiquement évidentes de nécrose.
- Si vous prenez du tissu normal, prenez-le aussi loin que possible de la tumeur, en évitant de ne prendre que la graisse comme tissu normal (à moins que ce ne soit voulu).
- Ne prenez jamais un échantillon pour la recherche sans vous être informé du consentement éclairé et sans avoir consulté le pathologiste.

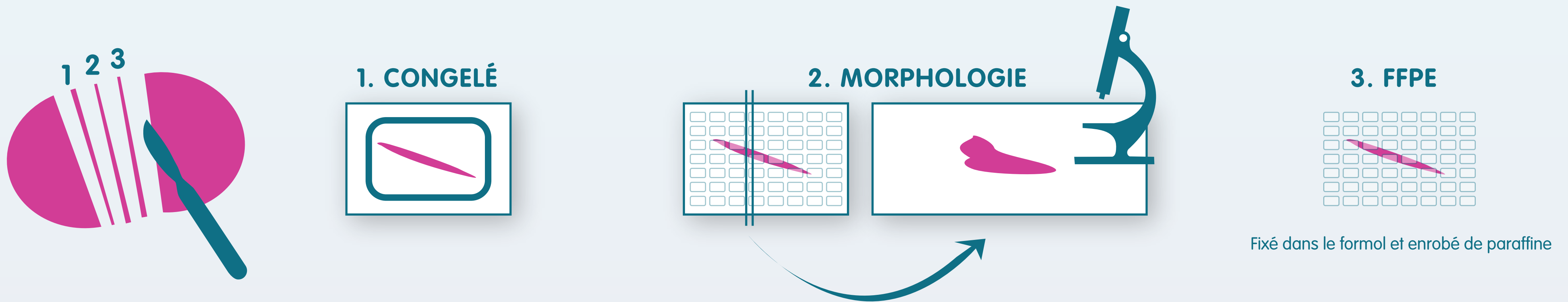


Dès que le tissu est prélevé :

- Envoyez directement le tissu au laboratoire. Il est crucial que le temps d'ischémie froide soit aussi court que possible, de préférence inférieur à 30 min à partir du moment de la résection.
- Le laps de temps entre le prélèvement et la congélation du tissu devrait être enregistré en temps réel.
- La fiole devrait être clairement étiquetée en utilisant des identifiants uniques par patient et une encre résistant à l'humidité et au froid.
- Il est crucial de s'assurer que l'échantillon ne sera ni comprimé ni fragmenté après l'échantillonnage. Le tissu devrait être manipulé délicatement, le cas échéant.

Utilisez le principe du miroir pour découper les échantillons !

- Cela signifie qu'une section de coupe est utilisée pour l'évaluation de la morphologie et que les sections adhérentes sur les deux côtés de la lame utilisée pour l'évaluation de la morphologie sont congelées et respectivement fixées et incluses dans la paraffine.
- Les images en miroir sont importantes pour éviter l'hétérogénéité entre un échantillon congelé et un échantillon correspondant fixé de la même tumeur.



Il existe 3 options pour congeler votre tissu :

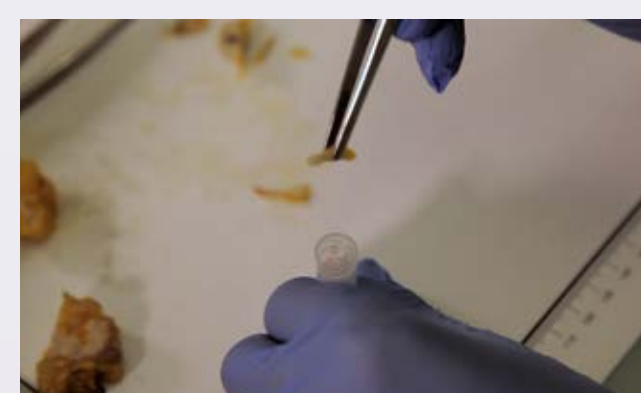
UTILISEZ L'AZOTE LIQUIDE :



- Le tissu est rapidement congelé dans l'azote liquide, à des températures de -160 à -190° C, avant d'être transféré dans un congélateur à -80° C.

- Le principal inconvénient de cette méthode est qu'il peut y avoir des artefacts de brûlure de congélation.
- + Le principal avantage repose dans sa facilité et sa relative rapidité.

UTILISEZ LE RNA-LATER:



- Le tissu est d'abord immergé dans du RNA-later.
- L'échantillon peut ensuite être conservé à température ambiante ou même entre 4° à 5° C au réfrigérateur pendant plusieurs jours avant d'être transféré dans un congélateur à -20° C pendant plusieurs semaines avant d'être enfin transféré dans un congélateur à -80° C.
- L'accommodation graduelle du tissu à des températures inférieures est une option privilégiée à considérer. La taille de l'échantillon devrait être limitée afin de s'assurer que le RNA-later peut y pénétrer.

- Les principaux inconvénients de cette méthode sont les difficultés d'évaluation de la morphologie, en particulier l'infiltration lymphocytaire.
- + Les principaux avantages comprennent une excellente préservation de l'ARN, l'absence d'utilisation de carboglace et d'azote liquide et sa facilité d'utilisation en général.

UTILISEZ L'OCT :



- Le tissu est immergé dans l'OCT en tant que mesure cryoprotectrice, avant d'être transféré dans un congélateur à -80° C.
- Il est important que le tissu soit complètement immergé dans l'OCT de sorte qu'il n'ait plus aucun contact avec l'air.
- L'échantillon de tissu devrait être mis à plat en n'ajoutant pas trop d'OCT.
- L'échantillon est maintenant transféré dans un congélateur à -80° C.

- + Le principal avantage de cette méthode est qu'elle protège des artefacts de brûlure par congélation, la morphologie du tissu est bien préservée et elle protège contre les possibles cycles de gel-dégel lors du transfert de l'échantillon d'un site de stockage vers un autre.
- Un grand inconvénient cependant est que les réactions en PCR peuvent être inhibées.

Fixez les tissus dans le formol :

- Portez toujours des gants.
- Limitez le temps d'ischémie froide autant que possible ; fixez donc les zones d'intérêt ou les échantillons dans le fixateur dès que possible !
- Si vous utilisez une solution de fixation, le formol tamponné est le plus fréquemment utilisé. Veuillez utiliser du formol tamponné pour bien fixer les prélèvements.
- Si vous utilisez une autre solution de fixation que le formol, veuillez la valider avant d'y recourir de manière courante ! Enfin, n'oubliez pas : le meilleur temps de fixation est de 6 à 48 h et un temps inférieur peut être préjudiciable aux épitopes tout comme une fixation trop longue !

Dès que les échantillons sont stockés :

- Envisagez d'effectuer au minimum 2x/an un contrôle de qualité aléatoire de l'ADN, de l'ARN et des protéines d'au moins 1 % de vos échantillons si les échantillons sont utilisés à des fins de recherche ou de diagnostic.
- Veillez également à bien utiliser de la carboglace en cas de transfert d'échantillons d'un site de stockage vers un autre afin d'éviter les cycles de gel-dégel sur le même échantillon.
- N'oubliez pas de vous assurer que tout l'équipement utilisé est validé, le cas échéant.
- Il est fortement suggéré d'avoir un suivi continu de la température de tous les réfrigérateurs et congélateurs importants, avec un système d'alarme instantanée associé mis en place.

Pour de plus amples informations, consultez notre film et notre dépliant sur la manipulation adéquate des tissus sur www.BIGagainstbreastcancer.org

NON-RESPONSABILITÉ

Ce matériel didactique a pour but d'illustrer « Les bonnes pratiques de laboratoire » en termes de manipulation des échantillons lors des essais cliniques sur le cancer. À cette fin, l'accent a été mis sur les méthodes les plus fréquemment utilisées, en sachant que d'autres méthodologies et agents de conservation/fixateurs peuvent également être utilisés dans certains laboratoires. Aucun jugement n'est porté sur de telles autres méthodologies ni sur de tels autres agents de conservation/fixateurs. Le Breast International Group (BIG) ne sera nullement tenu pour responsable de l'application du contenu exposé ici.

REMERCIEMENTS

Ce matériel didactique a été réalisé grâce à une bourse reçue par l'Université du Michigan et la Breast Cancer Research Foundation (États-Unis). En outre, nous aimerions remercier les personnes (reprises dans l'ordre alphabétique) et les institutions suivantes pour leur précieuse collaboration : Jean-Benoît Burrier, 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) / Debora Fumagalli, Breast Cancer Translational Research Laboratory, Institut Jules Bordet, BIG / José Jimenez, Molecular Oncology Laboratory, Hospital Vall d'Hebron (Spain) / Denis Lamsont, 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 Straehle, 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 / Ainsi que tous les membres du Conseil d'administration du BIG