



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

RECOMMANDATIONS DE BONNE PRATIQUE

**CRYOPRÉSERVATION DE TISSUS, CELLULES
ET LIQUIDES BIOLOGIQUES ISSUS DU SOIN**

RECOMMANDATIONS

Septembre 2009

L'argumentaire scientifique de cette évaluation est téléchargeable sur
www.has-sante.fr

Haute Autorité de Santé

2 avenue du Stade de France - F 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX
Tél. :+33 (0)1 55 93 70 00 - Fax :+33 (0)1 55 93 74 00

Ce document a été validé par le Collège de la Haute Autorité de Santé en septembre 2009
© Haute Autorité de Santé – 2010.

Sommaire

Recommandations	4
1. Introduction	4
1.1 Thème des recommandations	4
1.2 Limites des recommandations	4
1.3 Objectifs des recommandations	5
1.4 Professionnels concernés	5
1.5 Analyse de la littérature disponible et gradation des recommandations	5
2. Recueil, préparation, acheminement, conditionnement, conservation, suivi et mise à disposition des prélèvements	5
2.1 Recueil et préparation des prélèvements	6
2.2 Fiche de transmission pour l'acheminement des échantillons	8
2.3 Conditionnement des prélèvements	8
2.4 Conservation des prélèvements	9
2.5 Traçabilité des prélèvements	10
2.6 Décongélation des échantillons	11
2.7 Transport des échantillons	11
2.8 Mise à disposition des échantillons et opérabilité intra et interlaboratoires	11
3. Liste des informations minimales communes associées à chaque prélèvement congelé	11
3.1 Identification du laboratoire et/ou de l'établissement	12
3.2 Informations sur le patient	12
3.3 Renseignements sur la (les) pathologie(s)	12
3.4 Identification du prélèvement	13
3.5 Éléments de gestion des prélèvements	13
4. Assurance qualité	14
5. Extraction des acides nucléiques	15
5.1 Maîtrise des ribonucléases et des contaminations entre échantillons	15
5.2 Caractérisation morphologique de l'échantillon	15
5.3 Lyse des échantillons	15
5.4 Extraction de l'ADN	16
5.5 Extraction des ARN	16
5.6 Extraction simultanée d'ADN et d'ARN	16
5.7 Extraction à partir de microprélèvements	17
5.8 Évaluation de la quantité et de la qualité des acides nucléiques extraits	17
6. Aspects juridiques touchant aux banques biologiques	17
6.1 Consentement en cas de changement de finalité de l'utilisation des échantillons déjà conservés	17
6.2 Consentement et examen des « caractéristiques génétiques »	17
6.3 L'accès des patients aux échantillons	18
Méthode <i>Recommandations pour la pratique clinique</i>	19
Participants	21
Fiche descriptive des recommandations	23

Recommandations

1. Introduction

1.1 Thème des recommandations

Ce document constitue une actualisation des « Recommandations pour la cryopréservation de cellules et tissus tumoraux dans le but de réaliser des analyses moléculaires », élaborées conjointement par la Société française de pathologie, la Société française d'hématologie et la Société française de cancérologie publiées en mai 2000 (ces recommandations avaient reçu le label de l'Anaes en 2000)¹. Cette actualisation a été demandée à la HAS par la Société française de pathologie.

Les recommandations initiales concernaient les cellules et tissus tumoraux ; leur actualisation élargit le thème à l'ensemble des tissus, cellules et liquides biologiques issus du soin. Elle complète :

- les recommandations publiées par l'Institut national du cancer (INCa) en 2006² sur les tumorothèques hospitalières ;
- la norme publiée en juillet 2008 par l'Association française de normalisation (Afnor) (NF S 96-900) qui concerne le système de management d'un centre de ressources biologiques et la qualité des ressources biologiques d'origine humaine et microbienne.

L'actualisation porte sur les pratiques de recueil et de préparation des prélèvements (tissus, cellules et liquides biologiques) issus du soin, sur leur acheminement, leur conditionnement et leur conservation à des fins diagnostiques, pronostiques ou d'orientation thérapeutiques.

Les recommandations actualisées traitent en particulier de :

- la cryopréservation de liquides biologiques issus du soin, prélevés chez des patients vivants. Les liquides biologiques concernés sont en particulier le sang (sérum et plasma), l'urine, le liquide céphalo-rachidien (LCR) ; ces recommandations peuvent par exemple concerner la conservation des liquides des séreuses (plèvre, péritoine, péricarde), du liquide synovial et articulaire, du liquide gastrique ou duodénal, de la bile, de la salive, de la sueur, des larmes et, par extension, les liquides de lavage gastrique et bronchique ;
- l'extraction des acides nucléiques à partir de divers échantillons biologiques. La préparation d'un extrait purifié des acides nucléiques à partir de matériel biologique est un processus complexe qui débute au moment du prélèvement. La qualité d'un extrait des acides nucléiques dépend non seulement de la technique d'extraction mise en œuvre, mais aussi de la maîtrise des étapes situées en amont de l'extraction proprement dite et du stockage ;
- certains aspects juridiques, liés à l'accès des patients ou de leurs ayants droit aux échantillons, au consentement du patient en cas de requalification d'échantillons ou d'analyses génétiques.

1.2 Limites des recommandations

Ces recommandations n'abordent pas les questions soulevées par la cryopréservation :

- en transfusion sanguine ;
- en procréation assistée et embryologie ;

¹ Société française de pathologie, Société française d'hématologie, Société française de cancérologie. Recommandations pour la cryopréservation de cellules et tissus tumoraux dans le but de réaliser des analyses moléculaires. 2000. http://sfh.hematologie.net/fr/telechargements/ANAES_mai_2000.pdf [consulté le 28-5-2009]

² Institut national du cancer. Les tumorothèques hospitalières. Recommandations à l'usage des cliniciens et des chercheurs .2006. < http://www.e-cancer.fr/v1/index.php?option=com_fichiers&Itemid=590&lang=1&vers=1 > [consulté le 14-2-2008].

- de greffons.

Elles ne concernent pas les prélèvements réalisés en *post mortem*.

Le champ de la recherche est également exclu.

Elles n'abordent pas les situations médicales dans lesquelles la cryopréservation d'échantillons d'origine humaine est souhaitable dans l'intérêt du patient.

1.3 Objectifs des recommandations

Les objectifs des recommandations sont :

- de préserver la qualité de tout échantillon biologique congelé issu du soin, afin de pouvoir réaliser notamment des analyses moléculaires dans un but diagnostique, pronostique ou d'orientation thérapeutique ;
- de standardiser, tracer et sécuriser juridiquement les activités préanalytiques (recueil, préparation, conditionnement, congélation, transformation en produits dérivés, etc.) ;
- d'inciter au respect des droits des patients à court et à long terme.

1.4 Professionnels concernés

Ce document est destiné à l'ensemble des professionnels de santé prélevant ou prenant en charge les échantillons biologiques issus du soin.

1.5 Analyse de la littérature disponible et gradation des recommandations

L'actualisation de ces recommandations s'appuie sur les grands axes communs aux différentes recommandations nationales et internationales identifiées dans la littérature depuis 2000, ainsi que sur les revues consacrées aux modes de fonctionnement des biobanques humaines. Étant donné le champ abordé, les études disponibles sont généralement de faible niveau de preuve. Certaines études ont été retenues et décrites pour illustrer quelques points particuliers d'actualisation (cf. argumentaire).

En l'absence de données publiées, ces recommandations sont fondées sur un accord professionnel au sein du groupe de travail réuni par la HAS, après consultation du groupe de lecture. L'absence de niveau de preuve ne signifie pas que les recommandations ne sont pas pertinentes et utiles. Elle doit en revanche inciter à engager des études complémentaires lorsque cela est possible.

2. Recueil, préparation, acheminement, conditionnement, conservation, suivi et mise à disposition des prélèvements

L'ensemble des processus décrits dans ce document doit être réalisé en conformité avec les bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologiques et celles des laboratoires de biologie médicale selon l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA, 1999)³.

La garantie de la qualité des tissus, cellules et liquides biologiques cryopréservés implique le respect des recommandations suivantes :

- le prélèvement doit être réalisé dans des conditions préétablies et connues (protocoles validés et concrètement disponibles) ;
- le délai entre prélèvement et congélation (incluant acheminement, préparation et conditionnement) doit être connu. Il doit être le plus bref possible pour assurer la

³ Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. Journal officiel 1999; 11 décembre:18441-52.

préservation des molécules labiles, telles que les ARN dont la demi-vie peut être de quelques minutes ;

- les conditions de manipulation doivent assurer la protection des échantillons biologiques contre toute dégradation ou contamination ;
- les procédés de cryopréservation doivent être adaptés à l'utilisation ultérieure du prélèvement (préservation de la viabilité des cellules, de l'intégrité structurale et éventuellement fonctionnelle des molécules) ;
- la traçabilité des échantillons biologiques, des données y afférant, des intervenants et des événements pouvant survenir tout au long du processus (notamment tout dysfonctionnement éventuel) doit être consignée et disponible à tout moment ;
- un programme de vérification de la stabilité en cours de conservation doit être mis en place afin de garantir la qualité des échantillons à long terme jusqu'à leur utilisation.

Pour chacune de ces étapes, les particularités liées aux liquides biologiques ou à l'extraction d'acides nucléiques sont développées le cas échéant dans un paragraphe spécifique.

Conformément à la norme française homologuée NF S 96-900 de juillet 2008, il est rappelé que le personnel effectuant un travail ayant une incidence sur la qualité des ressources biologiques et collections doit être sensibilisé au respect des bonnes pratiques, à la sécurité biologique et chimique, à l'utilisation de matériel approprié et à la biosûreté (sécurité des échantillons biologiques).

2.1 Recueil et préparation des prélèvements

La prise en charge des échantillons doit être effective et minutée dès que l'exérèse ou la dévascularisation, la biopsie ou la ponction a été réalisée. Le délai entre le recueil du prélèvement et sa congélation (voire son conditionnement en milieu intermédiaire) doit être connu pour chaque prélèvement. Il doit être le plus court possible.

Pour les analyses qui nécessitent une étape de mise en culture (par exemple cellules ou tissus), les manipulations du prélèvement doivent le préserver des contaminations (matériel stérile).

Sauf exception, le recueil et l'acheminement des cellules et tissus avant congélation s'effectuent à température ambiante.

Les précautions d'usage dans le transport et les manipulations de ces prélèvements potentiellement à risque doivent être respectées. Leur traçabilité doit être assurée *via* une fiche de transmission.

Les modalités de préparation des échantillons issus de prélèvements doivent être définies et écrites dans des protocoles d'études validés, justifiant la collection, en fonction des finalités diagnostiques, pronostiques ou d'orientation thérapeutique.

La traçabilité de la bonne application de ces procédures, ainsi que des non-conformités éventuelles, doit être assurée. Elle permettra la requalification éventuelle des échantillons biologiques.

Sélection des échantillons tissulaires ou cellulaires à congeler

Pour tout prélèvement cellulaire ou tissulaire, il est indispensable qu'une partie de l'échantillon fasse l'objet d'un contrôle diagnostique.

Pour les pièces opératoires, le ou les fragments de la pièce destinés à la congélation sont choisis par un anatomopathologiste en fonction des renseignements cliniques et des données macroscopiques afin de ne pas compromettre le diagnostic.

Pour les biopsies, ce choix est fait sur les données macroscopiques recueillies par le médecin préleveur. Dans tous les cas, le préleveur s'assure qu'un fragment représentatif des lésions, si possible contigu, est fixé pour le diagnostic anatomopathologique

microscopique (un prélèvement en miroir de l'échantillon congelé doit être fait pour analyse histopathologique après fixation).

Pour les prélèvements tumoraux, chaque fois que possible, il est souhaitable de congeler un ou plusieurs fragments de tumeur, et un ou plusieurs fragments de tissu macroscopiquement non envahi. Ces différents fragments d'un même prélèvement doivent faire l'objet d'un étiquetage qui les différencie.

Recueil et préparation des liquides biologiques

Les conditions de prélèvement ont des répercussions sur la qualité et l'utilisation potentielle des échantillons. Elles doivent respecter les consignes spécifiques à chaque type de prélèvement. La technique de prélèvement utilisée (ponction, sondage, etc.) et les caractéristiques du liquide biologique doivent être connues. Sont recueillies des informations telles que :

- la nature de l'échantillon (sang, ascite, etc.) ;
- le site de recueil (artère ou veine, urines émises ou sondage, etc.) ;
- les modalités de recueil ;
- le matériel (récipient, etc.) et les additifs éventuels (anticoagulants, antiseptiques, etc.).

La préparation des liquides biologiques fait appel à des méthodes physiques (centrifugation, sédimentation, etc.) ou chimiques (acidification, digestion, etc.), qui peuvent être complétées par une purification moléculaire partielle ou totale (isolement de lipoprotéines, séparation de classes de protéines, etc.). Selon la finalité de la collection, différents paramètres doivent être pris en considération, par exemple :

- la nature des échantillons à conserver (sang, échantillons paucicellulaires tels que le liquide céphalo-rachidien ou l'urine, etc.) ;
- la nature de la molécule à étudier (protéine, lipoparticule, élément tracé, etc.) ;
- la technique d'analyse (immuno-analyse, analyse protéomique, etc.).

Les modalités précises des différentes étapes de la préparation, par exemple la centrifugation pour séparer des éléments cellulaires d'un liquide biologique, sont définies. Les techniques et le matériel de préparation sont adaptés à la qualité de l'échantillon (en particulier pour les faibles volumes liquidiens).

Recueil d'échantillons sanguins ou médullaires

Les échantillons de sang ou de moelle à partir desquels seront extraits des acides nucléiques doivent être prélevés sur un anticoagulant dont les éventuelles traces résiduelles n'interféreront pas avec les enzymes utilisées en biologie moléculaire. L'anticoagulant recommandé est l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA-K₃). L'héparine (héparinate de lithium) doit être évitée du fait de son pouvoir inhibiteur sur les ADN polymérases utilisées pour la *polymerase chain reaction* (PCR).

En revanche, lorsqu'une mise en culture des échantillons de sang ou de moelle est prévue, comme pour la stimulation mitogénique, la transformation par le virus Epstein-Barr (EBV) ou l'obtention de mitoses en cytogénétique, l'EDTA doit être proscrit et l'héparine est alors recommandée.

Préparation d'échantillons en vue d'une extraction d'acides nucléiques

Pour les prélèvements destinés à une analyse d'ARN, il est recommandé de suivre les préconisations suivantes :

- la rapidité de congélation ;
- le port de gants ;
- l'utilisation de matériel exempt de nucléases.

De même, lorsque les prélèvements destinés à une analyse d'ARN nécessitent un liquide de conservation, celui-ci doit être dépourvu de ribonucléases.

2.2 Fiche de transmission pour l'acheminement des échantillons

Une fiche de transmission doit accompagner chaque échantillon et préciser :

- l'identité du patient ;
- l'identité et les coordonnées des opérateurs : préleveur, transporteur, destinataire ;
- la préparation éventuelle avant le transfert au laboratoire : séparation, fractionnement, type de conditionnement, etc. ;
- les conditions de transport : manuporté, pneumatique, température, etc. ;
- les délais d'acheminement : date et heure de prélèvement, de départ, de réception ;
- le cas échéant, les conditions particulières préalablement établies : obscurité, température définie, etc. ;
- les éventuelles non-conformités survenues à cette étape du processus.

Au laboratoire, une personne qualifiée et identifiée est chargée de la réception de ces échantillons. Elle contrôle la conformité aux exigences préétablies, note les éventuelles non-conformités et réalise l'enregistrement, en précisant la date et l'heure de réception et l'état du prélèvement.

2.3 Conditionnement des prélèvements

Conditionnement des cellules et tissus

Le conditionnement des prélèvements doit être fait par du personnel formé à ces techniques et avec un nombre minimum d'intervenants.

Il est recommandé de conditionner les prélèvements dans des tubes ou des sachets adaptés à la cryogénie, qui ferment hermétiquement et résistent à – 196 °C.

Pour les culots et suspensions cellulaires, le nombre de cellules contenues dans chaque tube doit être connu, ainsi que la composition du milieu de suspension ou du liquide de conservation et le caractère stérile ou non du prélèvement.

Pour les prélèvements tissulaires, il est souhaitable que le fragment soit mis à plat et orienté sur un support rigide qui sera introduit dans le tube ou sachet de congélation. Cela permet de réaliser plus facilement des coupes lorsque le fragment est congelé. L'addition ou non d'un milieu d'enrobage et l'utilisation de procédures stériles pour la préparation des échantillons doivent être connues.

La congélation doit être faite le plus rapidement possible par immersion du tube ou du sachet dans un fluide réfrigérant (l'isopentane refroidi par l'azote liquide). La chaîne du froid ne doit pas être rompue jusqu'à l'utilisation finale du prélèvement.

Pour les analyses qui nécessitent une étape de mise en culture, les procédures de congélation doivent préserver la viabilité des cellules, avec notamment une vitesse de descente en température maîtrisée (cf. *supra*).

Conditionnement de liquides biologiques

Les échantillons traités sont fractionnés et répartis dans des récipients adaptés, en fonction des modalités de conservation, préalablement définies et écrites.

L'identification pérenne de chaque échantillon doit être assurée.

Les informations techniques du conditionnement doivent être disponibles pour chaque échantillon : nature des récipients, nombre de fractions, présence d'additifs (stabilisants, inhibiteurs, etc.).

Conditionnement d'échantillons sanguins ou médullaires pour l'extraction d'acides nucléiques

Les échantillons de sang ou de moelle prélevés sur EDTA doivent être conditionnés pour la congélation dans un délai inférieur à 24 h. Durant ce délai, il est recommandé de les conserver à une température comprise entre 15 et 25 °C. Lorsque les délais sont plus longs, l'utilisation de tubes contenant un réactif de stabilisation des ARN intracellulaires à température ambiante est une alternative, mais les résultats sont moins fiables.

2.4 Conservation des prélèvements

Modalités de conservation et procédures

Les modalités de la congélation (qui doit être faite dans un délai court) sont précisées.

La conservation à long terme est d'autant meilleure que la température est basse. Elle doit se faire impérativement en dessous de -70 °C pour les cellules et tissus, car les ribonucléases (RNAses) sont actives aux températures supérieures à -70 °C et dégradent les prélèvements à long terme.

De manière optimale, la conservation à long terme pour les cellules viables est réalisée à -196 °C.

Le développement d'appareils de cryoconservation à -140/-150 °C permet d'envisager le remplacement de l'azote liquide (conservation des échantillons à -196 °C), dont l'utilisation est soumise à des contraintes de sécurité particulières.

Les appareils de conservation des collections biologiques doivent être placés dans des locaux fermant à clé, avec climatisation et systèmes d'alarme efficaces, garantissant le maintien des températures requises.

L'accès aux locaux et aux collections est réglementé et réservé à des personnes habilitées et formées, dont la liste est établie et régulièrement mise à jour.

Les appareillages sont régulièrement entretenus, dégivrés, et le bon fonctionnement des alarmes est testé.

Le contrôle des températures est assuré en continu, enregistré, vérifié et les documents d'enregistrement conservés, afin d'assurer la traçabilité en continu de la chaîne du froid. L'ensemble des systèmes de froid et les dispositifs de mesure du froid font l'objet de contrôles métrologiques réguliers. Les résultats de ces contrôles sont archivés.

Un appareillage de secours doit être maintenu en état de marche afin de pouvoir recevoir des échantillons en cas de défaillance technique. Les procédures d'intervention d'urgence doivent être affichées à proximité des appareillages.

Congélation de cellules isolées dont l'utilisation ultérieure n'est pas définie

Pour les extractions d'acides nucléiques, la congélation en culot sec ou en liquide de lyse adapté à l'extraction est recommandée. La congélation de cellules isolées en suspension dans une solution cryoprotectrice permet l'utilisation des cellules pour des applications comme l'immunophénotypage, la culture cellulaire, l'extraction d'acides nucléiques. C'est la solution recommandée. Avant de procéder à la répartition de l'échantillon en quantités aliquotes, il est recommandé d'évaluer la viabilité et le nombre des cellules.

Congélation en culot sec ou en tampon de lyse adapté à l'extraction

Il est recommandé de congeler les culots cellulaires par immersion en azote liquide.

Congélation des cellules en suspension dans un milieu cryoprotecteur

Les cellules en attente de congélation doivent être conservées à une température comprise entre 2 et 6 °C, puis aliquotées par exemple à une densité cellulaire comprise entre 10 et 30.10⁶ cellules/ml.

Un volume équivalent de solution de congélation est ajouté. Celle-ci contient un agent cryoprotecteur.

Pour préserver la viabilité des cellules, il est essentiel que le refroidissement de l'échantillon soit progressif et maîtrisé.

Conservation de liquides biologiques

Les moyens de conservation des liquides biologiques le plus couramment utilisés sont :

- la congélation (cryoconservation) à des températures comprises entre – 20 °C (sur une courte période) et – 80 °C (pour le long terme) ;
- la lyophilisation (sublimation de l'eau après congélation) utilisée notamment en histopathologie et en microbiologie ; cette technique n'a pas été évaluée pour la conservation de petits volumes de liquides biologiques et elle ne semble pas adaptée aux fluides ne présentant pas une masse résiduelle (charge) suffisante.

Congélation de sang total en vue d'une extraction d'acides nucléiques

La congélation directe du sang total est possible mais il est préférable de congeler un culot de leucocytes après lyse différentielle des globules rouges. Cette méthode de congélation ne peut être utilisée que pour préparer de l'ADN.

Conservation d'acides nucléiques

- **ADN** : il est conseillé de conserver les ADN de haut poids moléculaire à + 4 °C pour une utilisation immédiate, et à – 20 °C ou à – 80 °C, éventuellement sous forme précipitée, pour une utilisation à long terme.
- **ARN** : il est conseillé de conserver les ARN à – 80 °C, éventuellement sous forme précipitée dans l'éthanol, pour une conservation à long terme.

2.5 Traçabilité des prélèvements

La traçabilité est « l'ensemble des informations et mesures prises pour suivre et retrouver rapidement l'ensemble des étapes allant de l'examen clinique du donneur à l'utilisation de cet élément ou produit du corps humain, en passant par le prélèvement, la transformation, la conservation, le transport, la distribution »⁴.

Elle passe par la tenue de documents écrits ou numériques archivés : cahiers de laboratoires, modes opératoires, procédures.

Elle doit être assurée dans tous les cas, et particulièrement :

- lorsqu'il y a des prélèvements successifs pour un même patient ;
- lorsqu'un même prélèvement fait l'objet de plusieurs analyses.

L'identification du prélèvement doit être faite sur le tube ou le sachet en veillant à l'emploi de moyens adéquats pour préserver la lisibilité (crayons ou étiquettes cryogéniques, codes à barres, data matrix ou radio-étiquettes). Une double identification du prélèvement est recommandée avec à la fois le numéro d'enregistrement au laboratoire et un identifiant du patient, conforme au guide de bonne exécution des analyses médicales (GBEA) et selon

⁴ Arrêté du 9 octobre 1995 fixant les modalités de transmission des informations nécessaires au suivi et à la traçabilité des éléments et produits du corps humain (organes, tissus et cellules ou leurs dérivés) utilisés chez l'homme à des fins thérapeutiques. Journal officiel 1995;22 octobre:15489.

l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA, 1999) pour les domaines où il s'applique.

Il est recommandé de séparer prélèvements primaires et secondaires.

2.6 Décongélation des échantillons

Cette étape est essentielle pour garantir l'intégrité qualitative et quantitative des molécules. Un protocole de décongélation des échantillons est rédigé et appliqué. Un contrôle de qualité est mis en place, qui peut inclure le dosage de molécules présentes dans l'échantillon biologique conservé, ou dans un échantillon d'un programme de contrôle de qualité interne conservé dans les mêmes conditions.

Il n'est pas recommandé de recongeler des échantillons préalablement décongelés. S'il est nécessaire de réaliser plusieurs cycles de congélation-décongélation, cette information doit être tracée et archivée.

Il est également important de recueillir auprès des utilisateurs des données décrivant la qualité des échantillons.

2.7 Transport des échantillons

Le transport d'échantillons doit respecter des règles qui assurent leur intégrité et la sécurité des personnels. Des procédures fixent les conditions générales et spécifiques du transport (durée, température, nature des emballages, etc.). Des indicateurs de qualité (durée de la transmission, respect de la chaîne du froid, etc.) sont mis en place.

Une procédure de prévention des risques liés à la transmission d'agents infectieux véhiculés par le prélèvement (notamment sang ou liquides biologiques) est mise en place.

La traçabilité des événements imprévus ou indésirables est assurée.

Transport d'échantillons en vue d'une extraction d'acides nucléiques.

Les échantillons biologiques congelés doivent être transportés sans rupture de la chaîne du froid, dans un container refroidi et saturé en vapeur d'azote ou dans de la carboglace. Les conditions du respect de la chaîne du froid et de sa traçabilité doivent être fixées par contrat ou par tout autre moyen équivalent.

L'utilisation de solutions de préservation des acides nucléiques à température ambiante n'est pas compatible avec une analyse pathologique ultérieure de qualité.

2.8 Mise à disposition des échantillons et opérabilité intra et interlaboratoires

Il est essentiel qu'aucune analyse ne soit réalisée sur un échantillon tissulaire sans qu'il y ait eu un contrôle microscopique préalable, s'assurant que l'échantillon comporte bien la lésion et que celle-ci n'est pas nécrosée.

En cas de transmission de matériel sous forme congelée, il faut veiller à éviter toute rupture de la chaîne du froid.

Il est recommandé que les échanges entre utilisateurs soient formalisés.

3. Liste des informations minimales communes associées à chaque prélèvement congelé

L'exhaustivité, la pertinence, l'exactitude des données cliniques et la qualité des informations recueillies doivent être assurées tout au long du processus de recueil, d'acheminement, de préparation, de conditionnement et de conservation des prélèvements. Cela conditionne la

qualité de la banque constituée. La connaissance des données préanalytiques et leur exploitation conditionneront les résultats finaux des examens réalisés dans le cadre du diagnostic, du pronostic ou de la thérapeutique.

Une telle organisation nécessite :

- la conformation aux dispositions légales concernant les données directement ou indirectement nominative traitées par informatique : des formalités doivent être accomplies auprès de la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL) ;
- l'information et le consentement du patient.

Il est recommandé que l'usage de la base de données gérant l'inventaire ou le catalogue de la biothèque limite les variations possibles dans la saisie des informations en fonction de l'opérateur, par le biais de fonctionnalités informatiques imposant des formats de saisie prédéfinis (formats de champs prédéfinis, menus déroulants, etc.), et par la formation initiale et continue des utilisateurs du logiciel, y compris lors de changements de versions (importance des directions informatiques dans le déploiement et la maintenance d'outils informatiques ; proscrire les « fichiers maisons »).

Conformément à la norme française homologuée NF S 96-900 de juillet 2008 qui concerne le système de management d'un centre de ressources biologiques et la qualité des ressources biologiques d'origine humaine et microbienne, il est rappelé que pour la sécurité des données informatiques, une procédure documentée doit être établie pour permettre la maîtrise des accès (par exemple par mot de passe), les mises à jour et maintenances, la sauvegarde (support et périodicité spécifiés) et la restauration des données, ainsi que l'accès à des réseaux informatiques selon les modalités en vigueur.

Concernant spécifiquement la réalisation de tumorothèques, il est recommandé de se conformer au catalogue national de données qui décrit les paramètres à renseigner sur le site, le patient, la maladie, le prélèvement et le type d'échantillon biologique conservé (44 items au total).⁵

3.1 Identification du laboratoire et/ou de l'établissement

Pour chaque échantillon, l'identification du service clinique ou du laboratoire où le prélèvement a été réalisé et transformé est indispensable. Le prescripteur et sa qualité, le médecin préleveur ou le technicien de laboratoire ayant congelé le prélèvement sont également à identifier.

La date de la prescription et celle du prélèvement doivent être tracées et archivées.

3.2 Informations sur le patient

Les informations suivantes concernant le patient sont indispensables :

- identité ;
- date de naissance ;
- sexe ;
- état.

3.3 Renseignements sur la (les) pathologie(s)

Les informations suivantes concernant la (les) pathologie(s) sont indispensables :

- diagnostic principal : code nomenclature ou nom de la pathologie initiale ou principale. Un résumé succinct de l'histoire de la maladie et de ses principales

⁵ Institut national du cancer. Les tumorothèques hospitalières. Recommandations à l'usage des cliniciens et des chercheurs 2006. < http://www.e-cancer.fr/v1/index.php?option=com_fichiers&Itemid=590&lang=1&vers=1 > [consulté le 14-2-2008].

caractéristiques cliniques, biologiques ou autres, ainsi que des traitements antérieurs ou actuels pourra être joint ;

- date du diagnostic : au format « aaaammjj » ;
- pathologie(s) associée(s) : code(s) nomenclature de la (des) pathologie(s) associée(s). Un résumé succinct des pathologies associées ou secondaires et de leurs principales caractéristiques cliniques, biologiques ou autres, ainsi que des traitements antérieurs ou actuels pourra être joint.

3.4 Identification du prélèvement

Les informations suivantes concernant l'identification du prélèvement sont indispensables :

- site de stockage : localisation précise de la collection au sein de l'établissement ;
- identification du prélèvement : numéro, code d'identification ou numéro d'enregistrement au laboratoire ;
- date du prélèvement : au format « aaaammjj » ;
- heure du prélèvement : au format « hhmm ».

Particularités liées aux échantillons cellulaires et tissulaires

Informations indispensables :

- type d'échantillon : tissus ou cellules ;
- code d'organe ;
- côté (droit ou gauche) ;
- code du type de prélèvement (B pour biopsie, O pour pièce opératoire, C pour prélèvement cellulaire) ;
- code lésionnel histopathologique à saisir après l'examen microscopique selon le code ADICAP (Association pour le développement de l'informatique en cytologie et en anatomie pathologiques) ou CIM-10 (Classification internationale des maladies).

Particularités liées aux liquides biologiques

Informations indispensables :

- type d'échantillon : sang total, plasma, sérum, LCR, liquide de drainage, urines, salive, sueur, etc. ;
- type du prélèvement : 4 types de prélèvements sont proposés dans la liste initiale ci-dessous et codés :
 - P pour ponction liquidienne (sang, LCR, liquide d'épanchement...),
 - R pour recueil non invasif (urines, salive),
 - D pour liquide de drainage,
 - S pour recueil après stimulation (sueur, salive...) ;
- organe/tissu prélevé : dans le cas du prélèvement d'un liquide de ponction tissulaire par exemple.

3.5 Éléments de gestion des prélèvements

Ces renseignements sont aussi importants que les renseignements cliniques concernant le patient. Ils doivent donc être consignés et accompagner les échantillons pendant toute la durée de leur conservation :

- nature et nombre des contenants : nature et qualité du récipient (tubes en verre, pot en plastique précisant la nature du plastique, etc.) ;
- conditions et délai de transmission au laboratoire :
 - température de transport : 37 °C, température ambiante, + 4 °C, - 20 °C et moins,
 - conditions particulières, le cas échéant : obscurité, etc.,
 - délai d'acheminement : < 1 h, < 2 h, > 2 h ou inconnu ;

- conditions et délai de stockage :
 - volumes des fractions aliquotes conservées, nombre,
 - température de stockage : température ambiante, - 20 °C, - 80 °C, - 140/150 °C, - 196 °C,
 - heure du prélèvement : au format « hhmm »,
 - délai de mise en collection : < 1 h, < 4 h, > 4 h (le délai total avant congélation est à noter en minutes, sinon à calculer à partir de l'heure et minutes présumées du prélèvement, et de l'heure et minutes de la congélation) ou inconnu,
 - méthode de congélation (température, par paliers ou en un temps ; stérile ou non ; milieu d'enrobage ou de conservation) ;
- conditions de transport :
 - température de transport,
 - délai de transport,
 - modalités de l'acheminement (voie postale, transporteur, voie aérienne ou routière...).

Si les identifiants des échantillons extraits et de leurs produits dérivés sont différents, des liens doivent être conservés dans une base de données.

Particularités liées aux tissus

Renseignements complémentaires :

- nombre de tubes contenant du tissu pathologique ;
- nombre de tubes contenant du tissu normal.

Il faut marquer d'un signe de reconnaissance le dernier tube disponible pour un patient donné.

Pour les tumeurs, garder une partie du prélèvement tant que le malade est vivant.

Particularités liées aux cellules

Renseignements complémentaires :

- nombre total de cellules par tube pour les échantillons cellulaires ;
- conditions de préparation : diméthylsulfoxyde (DMSO), culot, autre.

Particularités liées aux liquides biologiques

Renseignements complémentaires :

- additifs lors du recueil : anticoagulant, antiprotéolytique, antiseptique, protecteur des macromolécules, fluidifiant, etc. avec sa (leur) dénomination (EDTA, ammonium quaternaire, etc.) ;
- conditions de préparation/transformation :
 - centrifugation : température, vitesse, durée,
 - additifs avant la conservation : fluidifiant, antiseptique, etc.,
 - purification partielle : précipitation, chromatographie, déprotéinisation chimique, etc.,
 - nature des éléments de pipetage, le cas échéant (qualité des embouts de pipettes pour l'analyse protéomique, qualité des récipients secondaires ou de conservation pour le dosage ultérieur des éléments-traces, etc.).

4. Assurance qualité

La gestion d'échantillons biologiques conservés dans une collection doit intégrer une démarche d'assurance qualité à toutes les étapes, de la prescription du prélèvement à l'utilisation finale des échantillons biologiques.

Des procédures ou modes opératoires sont rédigés pour chaque étape.

Des indicateurs de qualité sont définis et mis en place, visant au respect de la qualité tout au long du processus et permettant de détecter une modification des échantillons.

Tous les éléments utiles à la traçabilité des événements, à chaque étape du processus, sont relevés, conservés et régulièrement analysés.

Les non-conformités sont relevées, consignées et prises en compte pour l'utilisation des échantillons.

5. Extraction des acides nucléiques

Toute évolution dans les techniques d'extraction des acides nucléiques (substitution de réactifs, automatisation, modification substantielle du matériel biologique de départ, etc.) doit faire l'objet d'une évaluation comparativement à la technique de référence. La mise en place de contrôles de qualité intra et interlaboratoires est recommandée afin de valider toute évolution des techniques et de garantir la reproductibilité des performances d'une technique d'extraction validée.

5.1 Maîtrise des ribonucléases et des contaminations entre échantillons

Pour garantir un environnement sans ribonucléases, il est recommandé :

- de porter des gants et d'en changer fréquemment ;
- d'utiliser des réactifs et du matériel à usage unique, exempt de ribonucléases et de désoxyribonucléases (DNases) (à défaut une décontamination du matériel réutilisable peut être réalisée avec un réactif inactivant les ribonucléases) ;
- de décontaminer régulièrement les surfaces.

Dans les laboratoires dédiés à l'extraction et plus généralement à la biologie moléculaire, il est recommandé d'éviter l'utilisation des RNases et des DNases.

Pour éviter les faux positifs, la préparation des échantillons et l'extraction des acides nucléiques doivent être réalisées dans des zones dédiées du laboratoire.

5.2 Caractérisation morphologique de l'échantillon

Si aucun contrôle de l'échantillon tissulaire ou cellulaire n'a été réalisé au moment de la congélation, un contrôle morphologique doit être réalisé avant l'extraction d'acides nucléiques (afin de contrôler par exemple que le prélèvement concerne bien la lésion et que celle-ci n'est pas nécrosée).

5.3 Lyse des échantillons

Dès la sortie des containers à azote liquide ou des congélateurs à -80 °C , il est recommandé de transporter les échantillons à extraire dans un container adapté rempli d'azote liquide ou gazeux, ou de carboglace, afin de garantir le respect de la chaîne du froid.

Si l'échantillon est fragmenté en deux morceaux (l'un servira pour l'extraction et l'autre sera conservé), il est important de veiller à ce que chacun des deux morceaux soit conservé à basse température.

Les biopsies et les culots secs congelés doivent être lysés sans rupture de la chaîne du froid. Les échantillons de petite taille, comme les culots secs ou les biopsies endoscopiques, sont particulièrement exposés au réchauffement et doivent faire l'objet d'une attention particulière.

A partir de tissus et cellules congelées en culots secs

L'utilisation de coupes fines ou le broyage de fragments tissulaires est recommandé afin d'obtenir un contact rapide de l'échantillon avec le réactif de lyse et d'optimiser le rendement d'extraction d'ARN.

Lorsque le tissu a été préalablement enrobé d'*optimal cutting compound* (OCT), il est recommandé de limiter au maximum la quantité de ce dernier : l'OCT a la particularité de précipiter avec l'éthanol et il peut provoquer un colmatage des colonnes de silice, diminuant ainsi le rendement d'extraction.

À partir de cellules congelées

La décongélation de cellules congelées en DMSO doit être rapide : il est recommandé de diluer la suspension cellulaire en milieu tamponné isotonique, en opérant tube par tube.

5.4 Extraction de l'ADN

La méthode d'extraction au phénol chloroforme est recommandée pour l'obtention d'ADN de haut poids moléculaire. Elle ne doit être mise en œuvre que dans des conditions d'hygiène et de sécurité adaptées. À défaut, elle peut être remplacée par la méthode au perchlorate de sodium.

Les techniques d'extraction utilisant l'affinité de l'ADN pour la silice sont recommandées pour les analyses par PCR en temps réel. Elles ne sont pas recommandées pour les applications nécessitant un ADN de haut poids moléculaire.

L'utilisation des RNases en cours d'extraction n'est recommandée qu'aux cas d'absolue nécessité et avec les mesures de précaution adaptées.

5.5 Extraction des ARN

Il existe différents types d'ARN : ARN ribosomiaux, ARN messagers, ARN de transfert, miRNA et autres ARN de petite taille. Les techniques d'extraction permettent d'isoler la totalité des ARN ou spécifiquement certains d'entre eux.

La méthode d'extraction dite au phénol acide permet d'obtenir des ARN totaux de qualité suffisante pour leur exploitation *via* différentes techniques (expression des gènes par *Northern-blot* ; amplification par *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) ou RT-QPCR (quantitative) ; puces à ADN). Elle ne doit être mise en œuvre que dans des conditions de sécurité adaptées aux manipulations du phénol.

5.6 Extraction simultanée d'ADN et d'ARN

Des kits récents (basés sur la fixation séquentielle des acides nucléiques sur colonne de silice) permettent l'obtention parallèle d'ADN et d'ARN de bonne qualité, compatible par exemple avec l'étude du transcriptome sur puces à ADN ou l'amplification par PCR. Ce type de kit reste cependant à évaluer sur des séries plus étendues et sur différents types de matériel.

En raison de leur difficulté de mise en œuvre et de la qualité médiocre des acides nucléiques obtenus, les techniques d'extraction simultanées d'ADN et d'ARN (par centrifugation sur gradient de chlorure de césium ou par la méthode au phénol acide) ne sont pas recommandées pour un usage systématique. Elles doivent être réservées à des situations exceptionnelles.

5.7 Extraction à partir de microprélèvements

Pour les échantillons biologiques de très petite taille (ou tissus microdisséqués), il existe des kits d'extraction des acides nucléiques adaptés à l'extraction de microquantités. Quand la quantité de matériel biologique est vraiment très faible, il est conseillé d'extraire les acides nucléiques à partir du lysat cellulaire.

5.8 Évaluation de la quantité et de la qualité des acides nucléiques extraits

Après l'extraction, il est important de caractériser les acides nucléiques d'un point de vue quantitatif et qualitatif.

Pour mesurer la concentration d'une solution d'acide nucléique, les méthodes recommandées sont la spectrophotométrie et la fluorimétrie. Les solutions d'ADN pouvant être visqueuses, la concentration d'ADN dans la solution à analyser doit être inférieure à 200 ng/µl. Comme l'absorbance d'une solution d'acides nucléiques dépend de son pH et de sa force ionique, il est important de réaliser les dosages spectrophotométriques dans un tampon plutôt que dans l'eau.

6. Aspects juridiques touchant aux banques biologiques

Les recommandations émises portent sur des points de réflexion soulevés par la réglementation à propos du consentement du patient en cas de changement de finalité de l'utilisation des échantillons déjà conservés ou en cas d'examen des caractéristiques génétiques. Elles abordent également l'accès des patients ou de leurs ayants droit à des échantillons.

6.1 Consentement en cas de changement de finalité de l'utilisation des échantillons déjà conservés

La loi prévoit (Code de la santé publique, art. 1211-2) que pour les échantillons prélevés avant 2004, lorsque le patient est introuvable, et que l'on peut en justifier, leur utilisation sans preuve de l'information ou de consentement est possible réglementairement. Cette utilisation est également possible après accord d'un comité de protection des personnes.

Dans le cadre de la possibilité offerte par l'article 1211-2 alinéa 2 du Code de la santé publique, il est recommandé que le document d'information et la procédure de non-opposition mentionnent la nouvelle finalité d'utilisation des échantillons en se référant uniquement à une catégorie de pathologies (par exemple les catégories majeures de diagnostic, CMD) ou en utilisant la classification des pathologies générales (comme la cancérologie, les maladies infectieuses, etc.) (cf. exemple de formulaire de non-opposition⁶).

6.2 Consentement et examen des « caractéristiques génétiques »

Le fait de procéder à l'examen des « caractéristiques génétiques » d'une personne à des fins autres que médicales ou scientifiques, ou à des fins médicales ou de recherche scientifique, sans avoir recueilli préalablement son consentement écrit est interdit (Code pénal, art. 226-25). Il est donc recommandé de recueillir un consentement exprès dans ce cas (cf. exemple de formulaire en annexe de la Charte éthique élaborée par l'INCa en 2006⁷).

⁶ Dupont M. Recueillir, conserver et utiliser des échantillons biologiques humains à l'hôpital. Paris: Assistance Publique-Hôpitaux de Paris; Doin; 2008.

⁷ Institut national du cancer. Charte éthique pour le recueil, la conservation et l'utilisation des échantillons tumoraux humains dans le cadre de la prise en charge médicale et de la recherche en cancérologie. Recommandations à l'usage du praticien, du chercheur, et des responsables de tumorothèques et de centres de ressources biologiques. 2006. <http://www.academie-medecine.fr/UserFiles/File/rapports_thematiques/cancer/charte_ethique_tumortheque_Institut_du_cancer2006_1.pdf> [consulté le 18-8-2009].

Cette disposition ne distingue pas les « caractéristiques génétiques » – termes utilisés dans la loi – selon qu’elles seraient identifiantes (constitutionnelles) ou non (somatiques). Ce point reste à définir par le législateur.

6.3 L'accès des patients aux échantillons

Le statut des échantillons biologiques conservés par les établissements de santé et de recherche et les règles concernant les possibilités d'accès à ces échantillons par les personnes ne sont pas définis dans la loi.

En l'état, en cas de mise à disposition d'un échantillon demandé par un patient, il est recommandé d'archiver la demande écrite, le motif médical, la description du matériel confié et la date à laquelle la mise à disposition a été réalisée.

Méthode *Recommandations pour la pratique clinique*

Les recommandations de bonne pratique professionnelle sont définies comme « des propositions développées selon une méthode explicite pour aider le praticien et le patient à rechercher les soins les plus appropriés dans des circonstances cliniques données ».

La méthode *Recommandations pour la pratique clinique* (RPC) est l'une des méthodes utilisées par la Haute Autorité de Santé (HAS) pour élaborer des recommandations professionnelles. Elle repose, d'une part, sur l'analyse et la synthèse critiques de la littérature médicale disponible, et, d'autre part, sur l'avis d'un groupe multidisciplinaire de professionnels concernés par le thème des recommandations.

Choix du thème de travail

Les thèmes de recommandations professionnelles sont choisis par le Collège de la HAS. Ce choix tient compte des priorités de santé publique et des demandes exprimées par les ministres chargés de la santé et de la sécurité sociale. Le Collège de la HAS peut également retenir des thèmes proposés par des sociétés savantes, l'Institut national du cancer, l'Union nationale des caisses d'assurance maladie, l'Union nationale des professionnels de santé, des organisations représentatives des professionnels ou des établissements de santé, des associations agréées d'utilisateurs.

Pour chaque thème retenu, la méthode de travail comprend les étapes suivantes.

Comité d'organisation

Un comité d'organisation est réuni par la HAS. Il est composé de représentants des sociétés savantes, des associations professionnelles ou d'utilisateurs, et, si besoin, des agences sanitaires et des institutions concernées. Ce comité définit précisément le thème de travail, les questions à traiter, les populations de patients et les professionnels concernés. Il signale les travaux pertinents, notamment les recommandations existantes. Il propose des professionnels susceptibles de participer aux groupes de travail et de lecture. Ultérieurement, il participe au groupe de lecture.

Groupe de travail

Un groupe de travail multidisciplinaire et multiprofessionnel est constitué par la HAS. Il est composé de professionnels de santé, ayant un mode d'exercice public ou privé, d'origine géographique ou d'écoles de pensée diverses, et, si besoin, d'autres professionnels concernés et de représentants d'associations de patients et d'utilisateurs. Un président est désigné par la HAS pour coordonner le travail du groupe en collaboration avec le chef de projet de la HAS. Un chargé de projet est également désigné par la HAS pour sélectionner, analyser et synthétiser la littérature médicale et scientifique pertinente. Il rédige ensuite l'argumentaire scientifique des recommandations en définissant le niveau de preuve des études retenues. Ce travail est réalisé sous le contrôle du chef de projet de la HAS et du président.

Rédaction de la première version des recommandations

Une première version des recommandations est rédigée par le groupe de travail à partir de cet argumentaire et des avis exprimés au cours des réunions de travail (habituellement deux réunions). Cette première version des recommandations est soumise à un groupe de lecture.

Groupe de lecture

Un groupe de lecture est constitué par la HAS selon les mêmes critères que le groupe de travail. Il est consulté par courrier et donne un avis sur le fond et la forme de l'argumentaire et des recommandations, en particulier sur la lisibilité et l'applicabilité de ces dernières. Ce groupe de lecture externe est complété par des relecteurs du comité de validation des recommandations au sein de la HAS.

Version finale des recommandations

Les commentaires du groupe de lecture sont ensuite analysés et discutés par le groupe de travail, qui modifie si besoin l'argumentaire et rédige la version finale des recommandations et leur synthèse, au cours d'une réunion de travail.

La version finale de l'argumentaire et des recommandations et le processus de réalisation sont discutés par le comité de validation des recommandations mis en place par la HAS. À sa demande, l'argumentaire et les recommandations peuvent être revus par le groupe de travail. Le comité rend son avis au Collège de la HAS.

► **Validation par le Collège de la HAS**

Sur proposition du comité de validation des recommandations, le Collège de la HAS valide le rapport final et autorise sa diffusion.

► **Diffusion**

La HAS met en ligne sur son site (www.has-sante.fr) l'intégralité de l'argumentaire, les recommandations et leur synthèse. La synthèse et les recommandations peuvent être éditées par la HAS.

► **Travail interne à la HAS**

Un chef de projet de la HAS assure la conformité et la coordination de l'ensemble du travail suivant les principes méthodologiques de la HAS.

Une recherche documentaire approfondie est effectuée par interrogation systématique des banques de données bibliographiques médicales et scientifiques sur une période adaptée à chaque thème. En fonction du thème traité, elle est complétée, si besoin, par l'interrogation d'autres bases de données spécifiques. Une étape commune à toutes les études consiste à rechercher systématiquement les recommandations pour la pratique clinique, conférences de consensus, articles de décision médicale, revues systématiques, méta-analyses et autres travaux d'évaluation déjà publiés au plan national et international. Tous les sites Internet utiles (agences gouvernementales, sociétés savantes, etc.) sont explorés. Les documents non accessibles par les circuits conventionnels de diffusion de l'information (littérature grise) sont recherchés par tous les moyens disponibles. Par ailleurs, les textes législatifs et réglementaires pouvant avoir un rapport avec le thème sont consultés. Les recherches initiales sont réalisées dès le démarrage du travail et permettent de construire l'argumentaire. Elles sont mises à jour régulièrement jusqu'au terme du projet. L'examen des références citées dans les articles analysés permet de sélectionner des articles non identifiés lors de l'interrogation des différentes sources d'information. Enfin, les membres des groupes de travail et de lecture peuvent transmettre des articles de leur propre fonds bibliographique. Les langues retenues sont le français et l'anglais.

► **Gradation des recommandations**

Chaque article sélectionné est analysé selon les principes de lecture critique de la littérature à l'aide de grilles de lecture, ce qui permet d'affecter à chacun un niveau de preuve scientifique. Selon le niveau de preuve des études sur lesquelles elles sont fondées, les recommandations ont un grade variable, coté de A à C selon l'échelle proposée par la HAS.

En l'absence d'études, les recommandations sont fondées sur un accord professionnel au sein du groupe de travail réuni par la HAS, après consultation du groupe de lecture. Dans ce texte, les recommandations non gradées sont celles qui sont fondées sur un accord professionnel. L'absence de gradation ne signifie pas que les recommandations ne sont pas pertinentes et utiles. Elle doit, en revanche, inciter à engager des études complémentaires.

Pour en savoir plus sur la méthode d'élaboration des recommandations pour la pratique clinique, se référer au guide publié par l'Anaes en 1999 : « Les recommandations pour la pratique clinique - Base méthodologique pour leur réalisation en France ». Ce guide est téléchargeable sur le site Internet de la HAS : www.has-sante.fr.

Participants

Groupe de travail

Pr Anne Janin, anatomopathologiste, Paris - présidente du groupe de travail ;
M. Frédéric de Bels, adjoint au chef de service, service des bonnes pratiques professionnelles, HAS, Saint-Denis La Plaine ;
Dr Joëlle Favre-Bonté, chef de projet, service des bonnes pratiques professionnelles, HAS, Saint-Denis La Plaine ;
Mme Karine Petitprez, chef de projet, service des bonnes pratiques professionnelles, HAS, Saint-Denis La Plaine

Pr Jean-Louis Beaudeau, biologiste, Paris
Pr Paulette Bioulac-Sage, anatomopathologiste, Bordeaux
Pr Jacques Bonnetterre, Professeur de cancérologie, Lille
M. Pascal Boucher, chef de projets ressources biologiques, INCa, Boulogne-Billancourt
M. Serge Braun, directeur scientifique à l'Association française de lutte contre les myopathies, Évry
Mme Ingrid Callies, conseiller pour l'éthique de la recherche, Paris
Dr Jean-Michel Cayuela, biologiste hématologue, Paris
Dr Emmanuel Chaubourt, chef de projet à l'Association française de lutte contre les myopathies, Évry
Pr Jean-Michel Coindre, pathologiste, Bordeaux
Dr Bernard Dazey, responsable thérapie cellulaire et banque de tissus, Établissement français du sang, Bordeaux

M. Marc Dupont, directeur d'hôpital – Directions des affaires juridiques, Paris
Dr Charles Duyckaerts, anatomopathologiste, Paris
Dr Arnaud de Guerra, chef de projet de recherche à l'Agence de la biomédecine, Saint-Denis
Dr Dominique Leroux, professeur de génétique médicale – responsable du laboratoire d'hématologie cellulaire et médiculaire, Grenoble
Pr Gérard Luc, endocrinologue, Lille
Dr Elizabeth Luporsi, oncologue, Vandœuvre-lès-Nancy
Mme Karine Martinière, pharmacienne, Afssaps, Saint-Denis
M. Gérard Parmentier, Pontoise
Pr François Plenat, anatomopathologiste, Vandœuvre-lès-Nancy
Mme Emmanuelle Rial-Sebag, juriste, Toulouse
Dr Xavier Sastre-Garau, pathologiste, Paris
Pr François Sigaux, hématologue, Paris

Sous-groupe « conservation des liquides biologiques à des fins diagnostiques et thérapeutiques »

Mme Françoise Amesland, immunologiste, Paris
Pr Jean-Louis Beaudeau, biologiste, Paris
Dr Joëlle Benessiano, biologiste, Paris

Dr Katell Peoc'h, biologiste, Paris
Dr Annie Sulahian, immunologiste, Paris
Dr Alain Wagnier, médecin microbiologiste, Paris

Sous-groupe « extraction d'acides nucléiques à partir d'échantillons cellulaires et tissulaires »

M. Michel Barrois, ingénieur biologiste, Villejuif
Dr Kheïra Beldjord, hématologue, Paris
Dr Joëlle Benessiano, biologiste, Paris
M. Julien Blin, ingénieur, Paris
Dr Jean-Michel Cayuela, biologiste hématologue,
Paris
Mme Virginie Fataccioli, ingénieur, Créteil
Mme Daniela Geromin, ingénieur de recherche,
Paris

Mme Ingrid Lebigot, ingénieur, Paris
Dr. Christophe Leboeuf, ingénieur, Paris
Pr Karen Leroy, biologiste, Créteil
Mme Stéphanie Meyer, technicienne de
recherche clinique, tumorothèque, Paris
M. Louis-François Plassa, cadre administratif pôle
biologie pathologie, Paris
M. Thomas Robert, ingénieur d'étude, Villejuif

Sous-groupe satellite « points juridiques »

Mme Ingrid Callies, conseiller pour l'éthique de la recherche, Paris
M. Marc Dupont, directeur d'hôpital – Directions des affaires juridiques, Paris
Mme Emmanuelle Rial-Sebag, juriste, Toulouse

Groupe de lecture

Dr Jean-Pierre Aboulker, épidémiologiste, Villejuif
Pr Christian Chabannon, oncologue médical,
Marseille
Dr Liliane Demange, médecin oncologue
radiothérapeute et oncogénéticien, Reims
Pr Thierry Fest, hématologue cellulaire, Rennes
Pr Jean-François Flejou, pathologiste, Paris
Dr Yves Guillard, chirurgien oncologue, Nantes
Dr Michel Guiu, médecin pathologiste, Perpignan
Dr Patrick Hamsany, directeur qualité,
responsable biothèque, Bordeaux
Pr Jean-Jacques Hauw, anatomopathologiste -
neurologie, Paris

M. Gilbert Mongaillard, ingénieur, responsable
technique de la biotèque transfusionnelle, Dijon
Dr Agnès Neuville, pathologiste, Strasbourg
Mlle Magali Peter, chargée de coordination
tumorothèque régionale, Toulouse
Pr Martine Raphael, hématologue, Le Kremlin-
Bicêtre
Dr Christophe Sattonnet, anatomopathologiste,
Cagnes-sur-mer
Dr Si Nafa Si Ahmed, hépatologue, Lyon
Pr Jean-Jacques Voigt, médecin pathologiste,
Toulouse
Pr Marianne Ziol, pathologiste, Bondy

Fiche descriptive des recommandations

TITRE	Cryopréservation de tissus, cellules et liquides biologiques issus du soin (Actualisation des « Recommandations pour la cryopréservation de cellules et tissus tumoraux dans le but de réaliser des analyses moléculaires », élaborées conjointement par la Société française de pathologie, la Société française d'hématologie et la Société française de cancérologie et publiées en mai 2000)
Méthode de travail	Recommandations pour la pratique clinique
Date d'édition	Uniquement disponible sur le site de la HAS
Objectif(s)	<ul style="list-style-type: none"> • Préserver la qualité de tout échantillon biologique congelé issu du soin, afin de pouvoir réaliser notamment des analyses moléculaires dans un but diagnostique, pronostique ou d'orientation thérapeutique. • Standardiser, tracer et sécuriser juridiquement les activités préanalytiques (recueil, préparation, conditionnement, congélation, transformation en produits dérivés, etc.). • Inciter au respect des droits des patients à court et à long terme.
Professionnel(s) concerné(s)	Ensemble des professionnels de santé prélevant ou prenant en charge les échantillons biologiques issus du soin.
Demandeur	Société française de pathologie
Promoteur	Haute Autorité de Santé (HAS)
Pilotage du projet	Coordination : Dr Joëlle Favre-Bonté, M. Frédéric de Bels, Mme Karine Petitprez, service des bonnes pratiques professionnelles, HAS (chef de service : Dr Patrice Dosquet) Secrétariat : Mlle Jessica Layouni Recherche documentaire : Mme Mireille Cecchin, avec l'aide de Mme Sylvie Lascols, service de documentation, HAS (chef de service : Mme Frédérique Pagès)
Financement	Fonds publics
Participants	Groupe de travail (présidente : Pr Anne Janin, anatomopathologiste, Paris), groupe de lecture : cf. liste des participants
Recherche documentaire	Janvier 2000-mars 2009
Auteurs de l'argumentaire	Chargés de projet (selon les sous-groupes) : Jean-Michel Cayuela, Jean-Louis Beaudoux, Ingrid Callies et Marc Dupont Karine Petitprez, chef de projet, HAS
Validation	Avis du comité de validation des recommandations Validation par le Collège de la HAS en septembre 2009
Autres documents	Argumentaire téléchargeable gratuitement sur www.has-sante.fr