



Centre de Référence
des Syndromes hyperéosinophiliques

Etude des Profils Cliniques des patients suivis pour Hypereosinophilie chronique et/ou Syndrôme Hyperéosinophilique par le création d'une cohorte nationale.

COHORTE COHESION

Coordinateur de l'essai
Dr Guillaume LEFEVRE

MANUEL BIOLOGIE SPECIFIQUE

Version 1.2

Rédacteur : P Gelé.



Contenu

SUIVI DES MODIFICATIONS.....	3
AVERTISSEMENTS	4
Modalités d'étiquetage et de conservation	5
Modalités d'étiquetage	5
Modalités de Conservation.....	6
Présentation des tubes nécessaires pour les bilans COHESION	7
Modalités des prélèvements biologiques.....	9
Prélèvement sanguin biologie spécialisée	9
Matériel nécessaire mais non fourni dans les kits.....	10
<i>Biologie spécialisée en détail.</i>	11
ETUDE PRINCIPALE : PREPARATION : SERUM (V1)	11
ETUDE PRINCIPALE : PREPARATION : PLASMA EDTA (V1).....	12
ETUDE ANCILLAIRE : (V1)	13
Centralisation des échantillons.....	14
Fourniture de matériel	15
Contacts	16
ANNEXES	17
Fiche de Commande de Matériel	17
Fiches de traçabilité	19



SUIVI DES MODIFICATIONS

Rédacteurs : Patrick GELE, Bertrand ACCART

Version Ulérieure	Modification apportée	Numéro nouvelle version
1.0	<ul style="list-style-type: none">- MAJ des procédures de l'étude ancillaire- MAJ du formulaire de commande de matériel (V1.1)- Ajout du formulaire de demande de rapatriement- MAJ des contacts	1.1
1.1	<ul style="list-style-type: none">- MAJ des logos CRB- MAJ des contacts- MAJ du formulaire de réassort en matériel- MAJ du formulaire de transfert d'échantillons	1.2

AVERTISSEMENTS

Seules les procédures présentes dans ce manuel **font référence, et doivent être utilisées** pour le traitement pré-analytique des prélèvements de l'étude **COHESION**

La production et l'utilisation de documents autres que ceux fournis par le promoteur engage la responsabilité individuelle des centres, et pourra être considérée comme une déviation au protocole.

Les procédures et documents rassemblés dans ce manuel sont destinés à un usage exclusif dans le cadre de **COHESION** et sont la propriété de l'Université de Lille et de l'auteur. Toute utilisation sans accord préalable de l'Université de Lille et de l'auteur dans un cadre autre que celui de l'étude est considérée comme une infraction aux lois du Copyright.

Modalités d'étiquetage et de conservation

Modalités d'étiquetage

Les prélèvements sont identifiés **avec les étiquettes fournies**.

Les étiquettes doivent être collées sur les tubes secondaires à température ambiante (voire à 4°C). Le collage dans la fourchette de température **[4°C-20°C]** garantie la tenue jusqu'à -196°C.

Les étiquettes **ne doivent pas** être appliquées sur des tubes congelés.

Les étiquettes sont pré-identifiées avec le numéro du centre, le numéro identifiant unique de l'échantillon et la visite.

Le numéro du patient sur l'étiquette doit être manuscrit. N'importe quel stylo à bille à encre noire convient.

Cette procédure implique que les planches d'étiquettes sont **spécifiques pour et une visite**, et les étiquettes spécifique pour un type d'échantillons. Les étiquettes d'une planche non utilisées ne peuvent donc pas être utilisées pour un autre sujet ou servir à identifier des visites différentes du même sujet.

Le reliquat d'étiquettes doit être conservé dans le centre.

Une étiquette est spécifiquement à coller sur la fiche de traçabilité du traitement pré-analytique.

Les étiquettes doivent être appliquées de manière à ce que le **code-barres soit toujours visible** dans son intégralité. L'application sur des microtubes de faible diamètre se fait en utilisant la méthode « Drapeau » (Flag) telle que présentée ci-dessous.



Modalités de Conservation

Des boites de stockage à -80°C vous sont fournies dans le cadre de **COHESION**. Les boites sont équipées de 81 loges.

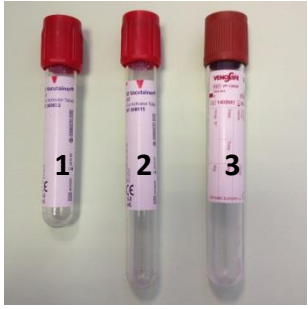

Les boites sont orientées



Il vous est demandé de placer les échantillons d'un patient pour une même visite sur deux lignes contigües : le schéma ci-dessous est purement illustratif et ne correspond pas à uen consigne de remplissage.

SCHEMAS DE RANGEMENT DANS LES BOITES PRODUITS SANGUINS

BOITE 1						BOITE 2					
			Patient 001								
			Visite 1								
				x	x						
			Patient 002								
			Visite 1								
			Patient 001								
			Visite 2								

Présentation des tubes nécessaires pour les bilans COHESION

TUBES PRIMAIRES	
TYPE DE TUBE	ILLUSTRATION
<p>Tube SECS de type CAT.</p> <ul style="list-style-type: none">1- 4.0 ml : A UTILISER POUR COHESION2- 6.0 ml3- 9.0 ml	
<p>Tubes EDTA</p> <ul style="list-style-type: none">1- 4.0 ml : A UTILISER POUR COHESION	

TUBES SECONDAIRES	
TYPE DE TUBE	ILLUSTRATION
<p>Microtubes à pas vissant</p> <p>1- Modèle « tube à jupe » de 2.0 ml. Les bouchons sont à pas vissant à l'extérieur du tube et munis d'un joint « o'ring » assurant l'étanchéité du tube une fois en place. A UTILISER POUR COHESION</p>	
<p>Microtubes de type Eppendorf</p> <p>Modèle Eppendorf Standard de 2.0 ml</p> <p>A UTILISER POUR COHESION</p>	

Modalités des prélèvements biologiques

Prélèvement sanguin biologie spécialisée

Le prélèvement sanguin de biologie spécialisée doit être réalisé simultanément au prélèvement sanguin de routine.

Le prélèvement de biologie spécialisé se présente en 3 volets :

- Un bilan pour l'étude principale, uniquement réalisé à la V1.
- Un bilan pour l'étude ancillaire à la V1,
- un bilan pour l'étude ancillaire pour les visites 2 à 5 (V2 à V5)

Nous recommandons que le prélèvement puisse être réalisé à jeun, entre 8h et 13h. Certaines cibles ou biomarqueurs peuvent être influencés par le rythme nyctéméral. Cette mesure permet également une meilleure standardisation des prélèvements.

La procédure de désinfection préalable à la phlébotomie est celle applicable dans le centre.

Il n'est pas fourni d'aiguille dans le kit. Toutefois, il est indispensable, dans le cadre de COHESION, d'utiliser une aiguille d'**au moins 21 G**. Peu importe qu'il s'agisse d'une épicrotémienne ou d'une aiguille classique pour ponction franche.

L'ordre des tubes recommandé pour le prélèvement est le suivant :

- 1- Tubes CPT
- 2- Tubes CAT
- 3- Tubes Lithium Héparine
- 4- Tubes EDTA.

Tous les tubes fournis doivent être remplis à **leur maximum**.

Une fois les tubes prélevés, il est indispensable de remplir la fiche de traçabilité des prélèvements

Les conditions de transfert entre le site de prélèvement et le site de traitement pré-analytique sont reprises sur cette fiche.

Matériel nécessaire mais non fourni dans les kits

Outre les aiguilles et les tubes de prélèvements pour la biologie standard, un certain nombre de matériel seront nécessaires mais non fournis pour l'étude.

- Centrifugeuse réfrigérée, avec rotor à godets (recommandé)
- Réfrigérateur,
- Micropipette de 1000 µL type pipetman Gilson,
- Cônes pour micropipette de 1000 µL,
- Portoirs à tubes,
- Congélateur -80°C.

Il est vivement recommandé de manipuler à l'intérieur d'un poste de sécurité microbiologique de niveau 2, même si les techniques ne nécessitent pas d'être réalisées de manière stérile, en application de l'arrêté du 16 Août 1996, modifié par l'arrêté du 16 Juillet 2007 relatif aux « *mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogène* ».

ETUDE PRINCIPALE : PREPARATION : SERUM (V1)

TUBE	2 tubes SECS de 4,0 ml Pas de prélèvement si poids < 8 kg
DELAI AVANT TRAITEMENT	6 heures
TEMPERATURE DE TRANSFERT AVANT TRAITEMENT	Température ambiante
REACTIF NECESSAIRE	NA
VISITE	V1

TRAITEMENT PRE-ANALYTIQUE

ETAPE	DESCRIPTION
1	S'assurer que la température de la centrifugeuse est à 20 °C.
2	Centrifuger les tubes à 1800g 20 minutes à 20°C
3	Préparer les tubes secondaires pour l'aliquotage : tubes de 2.0 ml à jupe.
4	Aliquoter le sérum : fractions de 0.5 mL (attendu : 7 aliquots) Laisser 5 mm de sérum au-dessus du caillot dans le tube primaire afin d'éviter une contamination par les globules rouges.
5	Etiqueter les tubes secondaires : Utiliser les étiquettes aliquotes de sérum
6	Congeler les tubes secondaires à -80°C.

ETUDE PRINCIPALE : PREPARATION : PLASMA EDTA (V1)

TUBE	2 tubes K ₂ EDTA de 4,0 mL
DELAI DE TRAITEMENT	6 heures
TEMPERATURE DE TRANSFERT AVANT TRAITEMENT	Température ambiante
REACTIF NECESSAIRE	NA
VISITE	V1

TRAITEMENT PRE-ANALYTIQUE

ETAPE	DESCRIPTION
1	S'assurer que la température de la centrifugeuse est à 20°C.
2	Centrifuger les tubes à 1800g 20 minutes à 20°C
3	Préparer les tubes secondaires pour l'aliquotage : tubes à jupe 2.0 ml et Eppendorf de 2.0 mL (1)
4	Aliquoter le plasma par fraction de 0.5 mL (attendu : 7 aliquots)
5	Laisser 5 mm de plasma au-dessus du culot dans le tube primaire afin d'éviter une contamination par les globules rouges.
6	Pour chaque tube primaire, récupérer l'anneau de cellules blanches (buffy coat) en aspirant 1.8 ml maximum. Pooler les deux buffy coats dans un même tube (Eppendorf de 2.0 mL) en ne dépassant pas un volume total de récupération de 1.8 mL
7	Etiqueter les tubes secondaires : Plasma EDTA : utiliser les étiquettes aliquotes de plasma Buffy Coat utiliser les étiquettes aliquotes de Buffy Coat
8	Congeler les tubes secondaires à -80°C en respectant le plan de boîte.

ETUDE ANCILLAIRE : (V1) – Centre de Lille et Foch

TUBE	7 tubes K₂EDTA de 4,0 mL Pas de prélèvement si poids ≤ 21 kg
DELAI DE TRAITEMENT	6 heures
TEMPERATURE DE TRANSFERT AVANT TRAITEMENT	Température ambiante
REACTIF NECESSAIRE	NA
VISITE	V1

TRAITEMENT PRE-ANALYTIQUE

ETAPE	DESCRIPTION
1	Etiqueter les tubes de prélèvement
2	Congeler les tubes à -80°C

Centralisation des échantillons

Le Centre de Ressources Biologiques du CHRU de LILLE est mandaté pour organiser la logistique des transferts des échantillons afin de les centraliser.

Les transferts seront réalisés selon une fréquence déterminée sur déclenchement du Centre de Ressources Biologiques (au minimum, un transfert pour 5 patients) ou à la demande du centre (Voir annexes). Les transferts d'échantillons seront sous-traités par une société externe au CHRU de LILLE.

Les échantillons étant congelés, pour des raisons de faisabilité logistique, les départs de transferts auront lieu du mardi au jeudi.

Tous les transferts seront réalisés en carboglace. Le prestataire fournira les emballages nécessaires et la carboglace en quantité suffisante pour le transport. Il n'est pas nécessaire de rajouter de carboglace dans l'emballage.

Le Centre de Ressources Biologiques n'assure pas de réception les week-ends et les jours fériés.

Fourniture de matériel

Il est de la responsabilité des centres de s'assurer de la quantité de matériel et réactifs disponibles, ainsi que du respect des dates de péremption.

La fourniture de matériel ou le réassortiment peut être réalisé en utilisant le formulaire de commande de matériel (Voir annexes), par fax ou par email au contact CRB.

La préparation et l'envoi du colis se fera sous **15** jours ouvrables. Le transfert vers les centres des matériels sera réalisé par voie postale standard. Il incombe aux centres de tenir compte de ce délai de trois à quatre jours ouvrés supplémentaires dans le délai de livraison.

Contacts

Centre de Ressources Biologiques du CHRU de LILLE

Centre de Ressources Biologiques
Centre d'Investigation Clinique 1403
Bâtiment BIOTHEQUE
Boulevard du Professeur Jules LECLERC
59037 LILLE CEDEX

Tél. : 03 20 44 68 92

Email : crb.ciclille@chru-lille.fr

Vous retrouverez l'ensemble des documents et informations concernant la cohorte COHESion sur le site internet : http://www.cereo.fr/website/cohorte_cohesion_&400&39.html

Pour toutes questions, vous pouvez contacter :

ARC promoteur :

Japhete ELENGA KOANGA : Japhete.ELENGAKOANGA@chu-lille.fr

03.20.44.41.45 (poste 29397)

ARC coordonateur et investigateur : (coordination des centres non-parisiens)

Séverine BLEUSE : Severine.BLEUSE@chu-lille.fr

03.20.44.59.62 (poste 31265)

ARC coordonnateur et investigateur : (coordination des centres parisiens)

Kewin PANEL: k.panel@hopital-foch.com

Fabienne JUSTER: f.juster@hopital-foch.com

01.46.25.35.76

Médecin coordonnateur :

Dr Guillaume LEFEVRE : guillaume.lefevre@chru-lille.fr

03.20.44.55.72


Interlocuteurs au CRB :

Loïc FACON (technicien référent) : loic.facon@chru-lille.fr

Bertrand ACCART (Responsable opérationnel) : bertrand.accart@chu-lille.fr

ANNEXES

Fiche de Commande de Matériel

COMMANDE MATERIEL <i>(V1.3 du 21/04/2022)</i>	Centre de Ressources Biologiques CRB/CIC1403 
ETUDE : COHESION	
IDENTIFICATION CENTRE NUMERO CENTRE : _ _ ORGANISME: _____	
Coordonnées du lieu de livraison: Bâtiment _____ Etage : _____ Aile : _____ Numéro de porte/dé de bureau : _____ Voie : _____ Code Postal : _ _ _ _ _ Ville _____ Téléphone : _____	
<u>Matériel demandé.</u> <u>Bulk</u> 5 visites _____ _ _ <i>N.B. : Les étiquettes nécessaires seront automatiquement associées au matériel fourni</i>	
Identification demandeur Nom _____ Adresse mail : _____ Signature _____	
COMMENTAIRES	


FICHE A TRANSMETTRE A : crb.ciclille@chru-lille.fr

Toute donnée manquante entrainera un retard dans le délai de traitement de la demande.



Propriété de CRB/CIC1403 – Université de Lille – Tous droits réservés ©




DEMANDE DE RAPATRIEMENT <i>(V1.2 du 21/04/2022)</i>	Centre de Ressources Biologiques CRB/CIC1403 
ETUDE : COHESION	
IDENTIFICATION CENTRE NUMERO CENTRE : _ _ ORGANISME: _____	
Coordonnées du lieu d'enlèvement : Bâtiment : _____ Etage : _____ Aile : _____ Numéro de porte/de de bureau : _____ Voie : _____ Code Postal : _ _ _ _ _ Ville : _____ Téléphone : _____	
Volumétrie Nombre de boîtes 133*133*50mm : _____ _ _	
Dates souhaitées (mardi au jeudi) : Préférence n°1 : _____ _ _ / _ _ / _ _ _ _ Préférence n°2 : _____ _ _ / _ _ / _ _ _ _ Préférence n°2 : _____ _ _ / _ _ / _ _ _ _	
Identification demandeur Nom : _____ Adresse mail : _____ Signature : _____	
COMMENTAIRES	

**FICHE A TRANSMETTRE A : Crb.ciclille@chru-lille.fr,
 Cc : loic.facon@chru-lille.fr / bertrand.accart@chu-lille.fr / severine.bleuse@chru-lille.fr**

Toute donnée manquante entrainera un retard dans le délai de traitement de la demande.



TRACABILITE TRAITEMENT PRE-ANALYTIQUE <i>(V1.1 du 21/04/2022)</i>	Centre de Ressources Biologiques CRB/CIC1403 
ETUDE : COHESION	
IDENTIFICATION PATIENT NUMERO D'INCLUSION : _____ __ _ - __ _ _ INITIALES : _____ __ _ _ VISITE : _____ V1 Etude principale	
Traitement Pré-analytique. DATE DU TRAITEMENT : _____ __ _ / __ _ / __ _ _ _ _ HEURE DE DEBUT : _____ __ _ : __ _	
TRAITEMENT DES TUBES EDTA <ul style="list-style-type: none"> - Centrifugation : 1800g – 20 min-20°C _____ <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON - Aliquotage du plasma par 0.5 ml : nombre d'aliquotes réalisés : _____ __ _ - Récupération du Buffy Coat : 1.8 ml : nombre d'aliquotes réalisés : _____ __ _ - Stockage à -80°C _____ <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON 	
TRAITEMENT DES TUBES SEC <ul style="list-style-type: none"> - Durée de coagulation \geq 30 minutes _____ <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON - Centrifugation : 1800g – 20 min-20°C _____ <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON - Aliquotage du sérum par 0.5 ml : nombre d'aliquotes réalisés : _____ __ _ - Stockage à -80°C _____ <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON 	
DATE DU CONGELATION : _____ __ _ / __ _ / __ _ _ _ _ HEURE DE CONGELATION : _____ __ _ : __ _	
Personnel en charge du Pré-Analytique Nom _____ Signature _____	
COMMENTAIRES	



**FICHE A JOINDRE AUX ECHANTILLONS TRANSMIS AU
CRB/CIC1403**



FE/CRB/033-V1

Propriété de CRB/CIC1403 - CHRU de Lille – Tous droits réservés ©

ORDONNANCE BIOTHEQUE

(V1.1 du 21/04/2022)

Centre de Ressources Biologiques
CRB/CIC1403



ETUDE : COHESION

Prescripteur : _____ Contact : _____

VISA :

IDENTIFICATION PATIENT (Tout document incomplet entrainera le refus du prélèvement)

INITIALES : SEXE : H F

Coller ici l'étiquette
patient (Sigma)

IDENTIFIANT :

POIDS DU SUJET : < 8kg ; ≥8kg-≤21kg ; > 21 kg

RECUEIL DU CONSENTEMENT : OUI NON

(Item obligatoire pour l'entrée du prélèvement dans la biothèque. Si la case « NON » est cochée, le prélèvement est refusé par le CRB/CIC1403)

PRELEVEMENT (A Remplir par le préleveur)

Nom et signature du Préleveur (capitales)

DATE :

HEURE :

JOUR	MOIS	ANNEE
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

HEURE	MINUTES
<input type="text"/>	<input type="text"/>

DETAIL DES PRELEVEMENTS

VISITE Cocher la case correspondante	TYPE	VOLUME	QUANTITE
Etude Principale <input type="checkbox"/> V1	EDTA (Violets) Si ≥8kg : SEC (Rouges) 4.0 ml..... 4.0 ml.....	Attendu 2 : oui non, sinon : ... Attendu 2 : oui non, sinon : ...
Etude Ancillaire <input type="checkbox"/> V1	Si > 21 kg EDTA..... 4.0 ml.....	Attendu 7 : oui non, sinon : ...
Etude Ancillaire <input type="checkbox"/> V2 <input type="checkbox"/> V3 <input type="checkbox"/> V4 <input type="checkbox"/> V5	Si > 21 kg EDTA : Si > 21 kg SEC: 4.0 ml..... 4.0 ml.....	Attendu 3 : oui non, sinon : ... Attendu 2 : oui non, sinon : ...

COMMENTAIRES

**FICHE A JOINDRE AUX ECHANTILLONS TRANSMIS AU
CRB/CIC1403**



FE/CRB/033-V1

Propriété de CRB/CIC1403 - CHRU de Lille – Tous droits réservés ©

