

TÍTULO: CONSERVACIÓN TEJIDO PULMONAR EN RNA LATER		
ARCHIVADO: PNT_8.2.002_TEJIDO_PULMONAR_RNA_LATER.doc		Nº DE CÓDIGO: 8.2.002
VERSIÓN: 1.1	FECHA DE EDICIÓN: 14/06/2010 12:46:00	PÁG. 1 DE 3
REDACTADO POR: Meritxell Arqué FECHA: 01/01/2009		FIRMA:
REVISADO Y APROBADO POR: Cristina Villena FECHA: 14/06/2010		FIRMA:

1. OBJETIVO

Las muestras de tejido son recogidas del excedente del descarte quirúrgico de pacientes que han consentido y están de acuerdo en participar en la Plataforma Biobanco Pulmonar.

Las colecciones de tejido fresco conservado en solución RNA/later® son un valioso recurso para investigación. Las muestras de tejido conservadas en solución RNA/later® son adecuadas para estudios que requieran una excelente obtención de RNA y son aptas, además, para estudios proteómicos y genómicos. El propósito de este documento es normalizar y estandarizar el procedimiento de conservación de tejido pulmonar en solución RNA/later® para la Plataforma Biobanco Pulmonar.

2. ALCANCE

Este procedimiento describe la manera de conservar el tejido pulmonar en solución RNA/later®. Este PNT no detalla los procesos para la seguridad e higiene laboral sobre materiales de riesgo biológico y/o productos químicos, y se recomienda que el personal siga las normas de Seguridad e Higiene establecidas en cada centro.

3. DOCUMENTACIÓN RELACIONADA

PNT_8.2.001_Recogida y transporte Tejido Pulmonar.doc
PNT_8.1.001_Etiquetado y Trazabilidad.doc

4. FUNCIONES Y RESPONSABILIDADES

El cumplimiento de este PNT recae sobre todos los miembros de la Plataforma Biobanco Pulmonar que son responsables de conservar el tejido pulmonar en solución RNA/later®.

5. MATERIAL Y EQUIPO

Los materiales, equipos y formas que se enumeran en la siguiente lista son sólo recomendaciones y pueden ser sustituidos por alternativas o productos equivalentes más adecuados para el lugar dónde se realiza la tarea o procedimiento.

Materiales y Equipos	Materiales y Equipos (específicos de centro)
Recipiente adecuado para manipulación y corte (Placas Petri)	
Marcadores y bolígrafos	
Pinzas estériles	
Solución RNA/later®	
Tijeras para cortar el tejido	
Guantes para proteger al personal de manipulación de tejidos	
Etiquetas suficientes y adecuadas para crioviales	
Máscara de protección frente salpicaduras	
Bata de protección frente derrames y salpicaduras	
Cinta adhesiva	
Crioviales estériles	

6. DEFINICIONES

Crioconservación: Proceso de conservación de material biológico a muy bajas temperaturas por un periodo prolongado de tiempo.

Solución RNA/later®: La solución RNA/later® es una solución acuosa estabilizadora no tóxica que penetra rápidamente en la mayoría de los tejidos para estabilizar y proteger el ARN celular *in situ* en las muestras frescas, eliminando la necesidad de congelar inmediatamente. Los tejidos pueden ser almacenados indefinidamente en solución RNA/later® a -20 °C o por debajo. Es especialmente útil para la conservación tanto de la calidad y como de la cantidad de ARN.

7. PROCEDIMIENTOS

Este procedimiento tiene por objeto garantizar que las muestras de tejidos que se recogerán de pacientes que han consentido se conservaran de manera segura, oportuna y eficiente, evitando riesgos de contaminación y pérdida de integridad molecular. Para facilitar el uso de las técnicas genómicas y proteómica es vital el proceso de conservación de las muestras para la obtención de productos con alta integridad y calidad.

7.1 TRANSPORTE DEL TEJIDO

1. La movilización de la pieza debe ser rápida, no más de 30 minutos entre la resección y el inicio de su conservación.
2. El personal de quirófano notificará de la existencia de tejido candidato a la persona responsable de la obtención de la muestra quien organizará su transporte desde el quirófano al laboratorio patológico (o laboratorio designado) de manera óptima para preservar la integridad celular y molecular.
3. El patólogo o la persona delegada responsable determinará el fragmento de tejido excedente para biobanco en función de las necesidades clínicas.
4. La pieza debe ser introducida en un recipiente de plástico, que a su vez se encuentre en un contenedor lleno de hielo.
5. Si es posible, previamente preparar los kits de colección tisular.

7.2 CONSERVACIÓN EN SOLUCIÓN RNA/later®:

1. Tratar el tejido como potencialmente infeccioso.
2. La conservación se llevará a cabo por el técnico de laboratorio o la persona formada para ello, nombrada por el responsable de cada uno de los nodos de la Plataforma Biobanco Pulmonar.
3. Identificar y/o etiquetar los crioviales, y preparar todo el material antes del aviso desde quirófano.
4. A menos de poder ser colocado en la solución RNA/later® inmediatamente, el tejido debería ser conservado dentro de los 30 minutos desde su resección.
5. No colocar el tejido directamente en el hielo.
6. Asegurarse que el tejido seccionado no se seque ni se contamine por contacto con otros tejidos o muestras. Utilizar pinzas, tijeras y bisturís limpios y estériles. Evitar contaminaciones cruzadas entre muestras o entre zona tumoral y tejido normal.
7. No poner en contacto la muestra con formol en ninguna etapa de su procesado. No añadir suero a la muestra.
8. Colocar una fracción de la pieza en un pequeño recipiente plano (ejemplo: tapa tubo 50 o tapa recipiente de orina) con unos 5ml de solución RNA/later® para que vaya penetrando en el interior del tejido.
9. Con ayuda de una tijera (para evitar desgarros) y unas pinzas estériles obtener pedacitos de 0,2 x 0,2 x 0,2 cm.
10. Sumergir de 5 a 10 pedacitos en cada criotubo con 0,5ml de solución RNA/later®.
11. Incubarlos 24h a 4°C.
12. Almacenarlos a -20°C.
13. Registrar la ubicación de la muestra guardada en el software de la Plataforma Biobanco Pulmonar.

14. En el caso de que el tiempo transcurrido entre la resección del tejido pulmonar hasta su congelación sea superior a 30 minutos, se deberá anotar como "Incidencia" en la información asociada a dicha muestra.

Los protocolos de conservación de tejido se encuentran en los PNT 8.2.002, 8.2.003, 8.2.004, 8.2.005 y 8.2.006.

8. REFERENCIAS, REGLAMENTOS Y DIRECTRICES APLICABLES

1. Declaration of Helsinki. <http://ohsr.od.nih.gov/helsinki.php3>
<http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>
2. Tri-Council Policy Statement; Ethical Conduct for Research Involving Humans; Medical Research Council of Canada; Natural Sciences and Engineering Council of Canada; Social Sciences and Humanities Research Council of Canada, August 1998.
<http://www.pre.ethics.gc.ca/english/policystatement/policystatement.cfm>
3. Human Tissue and Biological Samples for use in Research. Operational and Ethical Guidelines. Medical Research Council Ethics Series. http://www.mrc.ac.uk/pdf-tissue_guide_fin.pdf
4. Best Practices for Repositories I. Collection, Storage and Retrieval of Human Biological Materials for Research. International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER). <http://www.isber.org>
5. National Bioethics Advisory Commission: Research involving human biological materials: Ethical issues and policy guidance, Vol. I: Report and recommendations of the National Bioethics Advisory Committee. August 1999.
<http://bioethics.georgetown.edu/nbac/hbm.pdf>
6. US National Biospecimen Network Blueprint
http://www.ndoc.org/about_ndc/reports/NBN_comment.asp
7. Jewell, S. et al. 2002, Analysis of the Molecular Quality of Human Tissues, an experience from the Cooperative Human Tissue Network. Am. J. Clin.Pathol.118:733-741.
8. Guideline – Fresh Tissue Working Group of BIG and NCI breast cancer Cooperative Groups http://ctep.cancer.gov/forms/guidelines_fresh_tissue.pdf
9. SOP-PRO-Tissue-freezing.02, Oct 3, 2006. Freezing of Prostate Tissues. Procure
10. Quebec Prostate Cancer Biobank.