

STRIPES

| | |
|------------------------|---|
| Titre de la PON | Étude STRIPES – Prélèvements sanguins et procédures de laboratoire |
| Version de la PON : | Version 6 |
| Date de la PON : | Le 24 novembre 2015 (PON tirée du manuel <i>STRIPES Study SOP</i>) |

1. Prélèvements sanguins

1.1. Études mécanistes

On effectuera un prélèvement sanguin à des fins de recherche sur les patients des groupes expérimental et de contrôle pour lesquels on a accès à une veine ou à une artère ou qui doivent subir une ponction veineuse clinique, et ceci pour déterminer :

- Le taux de cortisol total avant d'administrer le médicament de l'Étude;
- Le taux de cortisol libre avant d'administrer le médicament de l'Étude;
- Les taux des métabolites de vitamine D, ce qui comprend la 25-hydroxyvitamine (25OHD) et la 1,25 hydroxyvitamine D (1,25OHD), dans un délai de 24 heures suivant l'admission du patient à l'hôpital;
- Le taux des protéines sériques pour mesurer le choc septique, dans les 24 heures suivant l'admission du patient à l'hôpital, soit :
 - Un ligand 3 C-C de type chimiokine (CCL3);
 - De l'interleukin 8 (IL8);
 - De la granzyme B (GZMB);
 - La protéine du stress 70 kDA 1B (HSPA1B);
 - La métalloprotéinase matricielle-8 (MMP8).

1.2. Prélèvement des échantillons

Pour les tests ci-dessus, on prélève 3 ml de sang dans un tube à capuchon rouge. Il est important de prélever l'échantillon pour le cortisol total et libre avant d'administrer les médicaments de l'Étude. Cet échantillon servira aussi à détecter la vitamine D et les biomarqueurs de stratification. Mais s'il n'y a pas d'accès pour prélever l'échantillon sanguin avant d'administrer les médicaments de l'Étude et que l'accès s'ouvre dans un délai de 24 heures après l'admission du patient, on prélève un échantillon sanguin uniquement pour détecter les métabolites de vitamine D et les biomarqueurs de stratification. Si l'on ne peut pas prélever de sang par les voies existantes ou par les prélèvements effectués cliniquement dans les 24 heures qui suivent l'admission du patient, on ne prend pas d'échantillon de ce patient pour l'Étude de recherche. Soulignons que même si l'on ne peut pas tirer les 3 ml requis, il faut prélever un échantillon de sang.

La personne qui effectue le prélèvement sanguin doit inscrire la date et l'heure du prélèvement et indiquer quels Cryovials le laboratoire doit remplir sur la feuille de réquisition. Si le prélèvement est effectué avant l'administration initiale du médicament de l'Étude, on coche les quatre Cryovials. Si le prélèvement a été effectué après l'administration initiale du médicament de l'Étude, on ne coche sur la réquisition que le tube violet (biomarqueurs de stratification) et le tube rouge (métabolites de vitamine D). Veillez à ce que le numéro d'identité affecté au patient pour l'Étude soit dûment inscrit sur la réquisition et sur le tube de prélèvement. Envoyez l'échantillon au laboratoire du centre avec la feuille de réquisition et les Cryovials de plastique déjà étiquetés. Vérifiez si le numéro d'identité du patient inscrit sur la feuille de réquisition correspond bien aux numéros d'identité inscrits sur les étiquettes des

Cryovials et si tous les renseignements qui figurent dans la réquisition, sur le tube de prélèvement et sur les Cryovials sont bien lisibles.

Inversions : Après le prélèvement, on inverse le tube 5 fois.

La coordonnatrice de recherche du centre indiquera dans son rapport de cas électronique si l'on a effectué ou non un prélèvement sanguin pour la recherche, la date et l'heure du prélèvement et si l'on avait ou non administré au patient la première dose du médicament de l'Étude avant d'obtenir l'échantillon de recherche.

Date d'expiration du tube de prélèvement : Avant d'effectuer les prélèvements, la coordonnatrice de recherche du centre devra vérifier si les tubes de prélèvement sont encore bons. Il ne faut pas utiliser des tubes dont la date figurant sur l'étiquette est expirée. Si la date de vos tubes de collection est expirée, veuillez en avertir la coordonnatrice de l'Étude, qui en fera envoyer d'autres à votre centre.

2. Procédures des laboratoires des centres

2.1. Traitement des échantillons de l'Étude

Envoyez à votre laboratoire chaque prélèvement obtenu pour cette Étude avec :

- Un formulaire de réquisition de l'Étude dûment rempli indiquant le numéro d'identité du participant à l'Étude ainsi que la date et l'heure du prélèvement (vous trouverez un modèle du formulaire de réquisition de l'Étude à l'**Annexe 1**).
- Quatre Cryovials déjà étiquetés avec des capuchons chromocodés.

Pendant la période de recrutement d'un an, on prélèvera un maximum de 24 échantillons (nous nous attendons à en obtenir de 6 à 12 par centre). Le personnel du laboratoire centrifugera et séparera les échantillons selon les instructions suivantes :

- Utiliser un prélèvement sanguin frais. Laisser reposer l'échantillon de 45 à 60 minutes avant de le centrifuger et de le séparer. On peut cependant le laisser reposer plus longtemps s'il n'est pas nécessaire de le centrifuger immédiatement.
- Séparer le sérum par centrifuge : 1500xg à 4°C pendant 15 minutes.
- Aliquoter le sérum dans les Cryovials déjà étiquetés. Avant cela, vérifier le formulaire de réquisition de l'Étude pour savoir quels Cryovials remplir avec cet échantillon. Ensuite, verser le volume de sérum indiqué dans les Cryovials prévus, en respectant l'ordre suivant :

| N° | Couleur du Cryovial | Volume de sérum | Type d'échantillon | Notes |
|----|---------------------|-----------------|--------------------------------|---|
| 1 | Jaune | 0,6 ml | Cortisol total | Ne s'applique peut-être pas à tous les échantillons; veuillez vérifier la réquisition de l'Étude. |
| 2 | Violet | 0,1 ml | Biomarqueurs de stratification | |
| 3 | Vert | 0,6 ml | Cortisol libre | Ne s'applique peut-être pas à tous les échantillons; veuillez vérifier la réquisition de l'Étude. |
| 4 | Rouge | 0,5 ml | Métabolites de vitamine D | |

- Si vous n'avez pas assez de sérum pour remplir tous les Cryovials, versez le volume requis dans chaque Cryovial en respectant l'ordre indiqué; autrement dit, versez d'abord 0,6 ml de sérum dans le Cryovial jaune (s'il y a lieu). Ensuite, s'il vous reste du sérum, versez-en 0,1 ml dans le Cryovial violet. Puis s'il vous reste encore du sérum, versez 0,6 ml dans le vert. Enfin, s'il vous reste du sérum, versez 0,5 ml dans le Cryovial rouge.
- S'il ne vous reste pas assez de sérum pour verser le volume indiqué dans le dernier Cryovial, versez-y ce qui vous reste.
- Inscrivez la date et l'heure du prélèvement de l'échantillon sur chaque Cryovial.
- Déposez les Cryovials VIOLET et ROUGE dans la boîte de congélation à -80°C fournie par le centre de coordination de l'Étude. Cette boîte est étiquetée « Étude de recherche STRIPES (-80°C) » et porte le nom de la chercheuse du centre. Entreposez cette boîte d'échantillons à -80°.
- Déposez les Cryovials JAUNE et VERT dans la boîte de congélation de l'Étude à -20°C. Cette boîte est étiquetée « Étude de recherche STRIPES (-20°C) » et porte le nom de la chercheuse du centre. Entreposez cette boîte d'échantillons à -20°C.
- Conservez ainsi ces échantillons jusqu'à la fin de la période de recrutement de l'Étude (12 mois au maximum). La chercheuse ou la coordonnatrice de recherche du centre indiquera au laboratoire quand la période de recrutement se terminera. On pourra alors expédier les échantillons.

2.2. Expédition des échantillons de l'Étude

À la fin de la période de recrutement, on expédiera les échantillons de l'Étude sur de la glace sèche au laboratoire du CHEO, Centre de coordination de l'Étude (CCE), à l'adresse suivante :

Réception centrale des laboratoires
 Centre hospitalier pour enfants de l'est de l'Ontario
 401, chemin Smyth
 Ottawa (ON)
 K1H 8L1
 613-737-2525, poste 2069

Veillez avertir la coordonnatrice de l'Étude, Katie O'Hearn à kohearn@cheo.on.ca, que vous avez expédié les échantillons. Ajoutez à votre courriel une liste complète des échantillons que vous expédiez.

La personne qui expédiera les échantillons devra avoir suivi une formation sur le transport des marchandises dangereuses (TMD). Chaque centre devra expédier ses échantillons sur de la glace sèche conformément aux règlements sur le TMD pour les spécimens de classe 6.2 et 9.0, catégorie B et les emballer conformément aux instructions de l'Association du Transport Aérien International (voir les **Annexes 2 et 3**).

Vous allez expédier les échantillons dans un emballage triple. Le CCE vous fournira les articles suivants pour expédier vos échantillons :

- Les premiers contenants (c.-à-d. les Cryovials étiquetés);

- Un emballage absorbant;
- Le deuxième contenant;
- Un emballage extérieur muni des étiquettes requises.

Veillez emballer chaque Cryovial séparément dans l'emballage absorbant avant de les déposer dans le deuxième contenant. Placez la glace sèche dans le deuxième contenant. Ne scellez pas le deuxième contenant – ni avec du ruban adhésif, ni avec autre chose.

L'emballage extérieur fourni à chaque centre portera les marques de sécurités et les étiquettes nécessaires pour indiquer le type d'échantillons et la présence de glace sèche. L'expéditeur devra inscrire les renseignements suivants sur les étiquettes de l'emballage extérieur :

- Nom et adresse de l'expéditeur;
- Coordonnées où joindre l'expéditeur pendant les 24 heures qui suivent;
- Poids de la glace sèche en kilogrammes.

L'expéditeur sera responsable de respecter les règlements sur le TMD et de veiller à ce que le paquet soit adéquatement identifié, classé et emballé, à ce qu'il porte les marques et les étiquettes requises et à ce qu'il soit accompagné de la documentation nécessaire. S'il y a une erreur d'emballage, le paquet sera renvoyé chez l'expéditeur à ses frais.

L'expéditeur conservera une copie des documents d'expédition (bordereau d'expédition) pendant au moins 3 ans.

3. Responsabilités des laboratoires des centres

Les laboratoires des centres seront responsables d'effectuer les tâches suivantes tirées des Procédures opérationnelles normalisées de gestion des échantillons biologiques (SOP011_05, en vigueur depuis le 15 mai 2013) du Réseau des réseaux (N2). Le Registre des délégations devra indiquer que le chercheur du centre a délégué les tâches suivantes au personnel de laboratoire concerné.

3.1. Responsabilités générales

- a) Avant d'entamer l'Étude, obtenir auprès de la chercheuse principale et du laboratoire central (CHEO) des instructions précises sur le traitement des échantillons. Veiller à ce qu'on dispose de toutes les fournitures nécessaires.
- b) Le protocole, le manuel de laboratoire et les autres documents devraient indiquer :
 - Les coordonnées du laboratoire central;
 - Les exigences en matière de collecte, d'étiquetage, de traitement et d'entreposage des échantillons;
 - Les fournitures;
 - Les instructions détaillées sur l'emballage et sur l'expédition des échantillons.
- c) Veiller à ce que les appareils tels que les centrifugeurs, les réfrigérateurs d'entreposage et les congélateurs soient dûment calibrés et vérifiés régulièrement selon un calendrier de maintenance. Conserver toute la documentation sur la maintenance de ces appareils avec la documentation essentielle de l'Étude.
- d) Préparer un plan d'urgence pour protéger l'intégrité des échantillons biologiques.
- e) Organiser ou effectuer la collecte des échantillons conformément au protocole.

- f) Documenter la collecte, l'entreposage et l'expédition (s'il y a lieu) des échantillons et conserver ces dossiers avec la documentation essentielle de l'Étude.

3.2. Entreposage des échantillons biologiques

- a) Veiller à ce que les échantillons biologiques soient entreposés à un endroit sécuritaire et conforme aux instructions du protocole et aux autres documents de l'Étude. Veiller à ce que seul le personnel autorisé y ait accès.
- b) Veiller à ce qu'on respecte les délais d'entreposage des échantillons biologiques fixés dans le protocole ou dans d'autres documents de l'Étude.
- c) Conserver les dossiers d'entreposage avec les autres documents essentiels de l'Étude.

4. Documents de l'Étude dans les laboratoires des centres

Chaque laboratoire doit fournir à la coordonnatrice de l'Étude de son centre les documents suivants à classer dans le cartable de réglementation de l'Étude. Suivant les procédures opérationnelles du centre, le laboratoire remettra ces documents sur une base régulière ou à la fin de l'Étude :

- Dossiers sur l'entreposage des échantillons;
- Documents d'expédition;
- License du laboratoire;
- Registres de température des congélateurs à -20°C et à -80°C;
- Documentation sur la maintenance des appareils utilisés dans le cadre de l'Étude (centrifugeur, congélateurs, etc.).

5. Laboratoire du Centre de coordination de l'Étude

Le laboratoire du CCE (qui est le Centre hospitalier pour enfants de l'est de l'Ontario, CHEO) assumera le rôle de laboratoire central de l'Étude et recevra les échantillons que lui enverront les centres où se déroulera l'Étude. Dès que le laboratoire du CHEO recevra les échantillons, il les enverra pour analyse aux établissements suivants :

| Type d'échantillon | Lieu de l'analyse |
|--------------------------------|---|
| Cortisol libre | Cleveland Clinic Laboratories 9500 Euclid Avenue LL2-1 Cleveland, Ohio 44195 |
| Cortisol total | EORLA/ALREO : L'Hôpital d'Ottawa 501, chemin Smyth Ottawa (ON) K1H 8L6 |
| Biomarqueurs de stratification | Wong Lab Cincinnati Children's Hospital Medical Centre MLC 2005 3333 Burnet Ave. Cincinnati, OH 45229 Personne-ressource : D ^r Hector Wong Tél. : 513-636-4259 Courriel : hector.wong@cchmc.org |
| Métabolites de vitamine D | À déterminer |

6. Formation du personnel des laboratoires des centres

Tous les employés qui participeront à l'expédition des échantillons au CCE devront suivre une formation sur le TMD. Ils devront remettre une copie de leur certificat de formation sur le TMD à la coordonnatrice de recherche de leur centre, qui le déposera dans le cartable de réglementation de l'Étude.

7. Fournitures de laboratoire

Le Centre de coordination de l'Étude enverra à chaque centre les fournitures suivantes :

- *Des trousse du participant pour un maximum de 24 participants* : Cette trousse contient le tube de prélèvement et les Cryovials étiquetés placés dans un sac spécial d'échantillonnage biologique ainsi qu'un formulaire de réquisition de recherche.
- *Matériel d'entreposage* : Deux boîtes de congélation (une pour entreposage à -80°C et l'autre pour entreposage à -20°C).
- *Fournitures d'expédition* : Emballage absorbant, contenant secondaire à l'épreuve des fuites et emballage extérieur muni des étiquettes requises.

Annexe 1 : Formulaire de réquisition pour l'Étude

| ÉTUDE PILOTE STRIPES – ÉCHANTILLON SANGUIN | |
|--|--|
| Date de collecte de l'échantillon (jj-mm-aaaa) : _____ | Numéro d'identité pour l'Étude STRIPES : _____ Centre menant l'Étude : _____ |
| Heure de collecte de l'échantillon (hh:mm) : _____ | |
| Échantillon recueilli par : _____ | |
| <u>Échantillons de l'Étude entreposés</u> | |
| Laisser l'échantillon reposer pendant 45 à 60 minutes, puis le centrifuger à froid et verser le sérum dans les Cryovials dans l'ordre indiqué ci-dessous : | |
| <input type="checkbox"/> Cryovial jaune, 0,6 mL (Cortisol total) **Ne pas vérifier si l'échantillon a été prélevé après avoir administré la dose initiale du médicament de l'Étude. ** | |
| <input type="checkbox"/> Cryovial violet, 0,1 ml (biomarqueurs de stratification) | |
| <input type="checkbox"/> Cryovial vert, 0,6 ml (Cortisol libre) ** Ne pas vérifier si l'échantillon a été prélevé après avoir administré la dose initiale du médicament de l'Étude. ** | |
| <input type="checkbox"/> Cryovial rouge 0,5 ml (métabolites de vitamine D) | |
| Entreposer tous les Cryovials à -80°C | |
| PERSONNES-RESSOURCES DE L'ÉTUDE | |
| Coordonnatrice de recherche du centre 613-566-5026 | Chercheuse du centre D ^r Kusum Menon |
| AUTRES PERSONNES-RESSOURCES | |
| Coordonnatrice de l'Étude Katie O'Hearn Tél. : 613-737-7600, poste 4006 Téléavertisseur : 613-759-9084 Courriel : kohearn@cheo.on.ca | Angel Hamilton, technologue principal Laboratoire Centre hospitalier pour enfants de l'est de l'Ontario 401, chemin Smyth Ottawa (ON) K1H 8L1 613-737-7600, poste 2069 |