

Instruks for håndtering af væv Regionernes Bio- og GenomBank

Introduktion

Følgende Instruks beskriver arbejdsgangen i forbindelse med indsamling og håndteringen af væv til opbevaring i Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB).

Praktisk procedure

Udtagning af væv:

- Dato og klokkeslæt for fjernelse af væv registreres på operationsstuen af operatør eller sygeplejerske.
- Fremsendelse af operationspræparater/biopsier til patologiafdelingen anbefales at foregå på is, så hurtigt som muligt. Alternativt kan udtagning af væv til Regionernes Bio- og GenomBank ske på operationsafdelingen, hvis lokale forhold nødvendiggør dette.
- Der udtages straks væv fra tumor og - hvis muligt - normalvæv til almindelig nedfrysning (tørt nedfrosset), til formalinfiksering med efterfølgende paraffinindstøbning, til montering i O.C.T. Tissue-Tek samt til behandling i RNAlater (figur 1).
- Væv skal lynfryses hurtigst muligt efter udtagning fra patienten og optimalt indenfor 1 time, men også væv, der ikke kan nedfryses indenfor 1 time, medtages i indsamlingen.
- Afhængig af præparatets størrelse udtages optimalt tumor- og normalvævsstykker på 10×10×10 mm til komplet standard fraktionssæt á 8 frosne fraktioner og 1 paraffinblok (i alt 9 fraktioner/deltager, figur 1 og tabel 2). Såfremt tumorstørrelsen er lille i en af dimensionerne, kan størrelsen tilpasses tilsvarende. Der udtages væv til Regionernes Bio- og GenomBank, såfremt der er nok til blot en enkelt tumor fraktion.
- Såfremt der ikke er tumorvæv nok til alle 9 fraktioner, er prioriteringsrækkefølgen 1. almindelig nedfrysning (tørt nedfrosset), 2. paraffinindstøbt væv, 3. O.C.T. Tissue-Tek monteret væv og 4. RNAlater behandlet væv. Det enkelte biobankcenter afgør selv, om der i så fald udtages til f.eks. 4 tørt eller til én af hver af ovennævnte fraktioner.
- Det normale væv kan være fra det parrede organ (uden tumor væv), eller kan være fra samme tumorbærende organ med angivelse af afstand (cm) til tumor.
- Udtagning af væv til Regionernes Bio- og GenomBank må ikke forhindre optimal diagnostik. Skønnes dette at være tilfældet, undlades vævsudtagning helt eller delvist. Dette registreres i så fald i modulet som "deltager uden materiale" og med oplysning om årsag i supplerende oplysninger

Håndtering af fraktioner:

Almindelig nedfrysning (tørt nedfrosset):

1. Nedfrysningsdato og klokkeslæt noteres.
2. Antal vævsstykker samt placering i biobankfryseren registreres.
3. Væv indfryses i rør ved anvendelse af tøris-afkølet isopentan (2-methyl butan), flydende kvælstof eller ved brug af 99 % ethanol.
4. Transport af indfrosset væv til fryser skal ske på tøris.

Paraffinindstøbt væv:

1. Dato og klokkeslæt for start og slut af formalinfiksering registreres.
2. Fikseringstiden anbefales at være 24 timer, maksimalt 48 timer.
3. For nogle tumortyper kan det anbefales altid at lave paraffinblok trods sparsom materiale-mængde.
4. Udtaget tumor og normalvæv verificeres efterfølgende i registreringsmodulet ud fra et H&E farvet vævssnit af det paraffinindstøbte væv.
5. Såfremt der kun findes nedfrosne materialer, verificeres vævet ud fra H&E farvet diagnostisk nabosnit til materialet udtaget til Regionernes Bio- og GenomBank.

O.C.T. Tissue-Tek monteret væv:

1. Dato og klokkeslæt for montering af væv i O.C.T. Tissue-Tek noteres.
2. Væv monteres enten direkte i O.C.T. Tissue-Tek i specialrør, eller monteres i O.C.T. Tissue-Tek i folieforme, der efterfølgende placeres i mikrorør (se RBGB utensilieliste).
For begge metoder anvendes tørisafkølet isopentan (2-methyl butan, bilag 1) eller flydende kvælstof til indfrysning.
3. Transport af monteret væv til opbevaring i -80 °C fryser skal foregå på tøris.
4. Antal vævsstykker samt placering i biobankfryser registreres.

Væv til senere RNA analyse:

1. Dato og klokkeslæt for start og slut af behandling i RNAlater registreres.
2. De enkelte vævsstykker placeres straks i rør indeholdende ½ ml RNAlater, og henstilles minimum et døgn/maksimum 2 uger ved 4 °C. Vævet skal være fuldstændig omgivet af væsken, og vævstykkerne må derfor ikke være større end at dette kan lade sig gøre.
3. Det anbefales at RNAlater bufferen afpipetteres fra røret før det RNAlater behandlede væv nedfryses. Men det er også tilladt at lade RNAlater bufferen blive i røret. Den præcise procedure aftales lokalt.
4. Datoer og klokkeslæt, antal vævsstykker samt placering i biobankfryser registreres i registreringsmodulet.

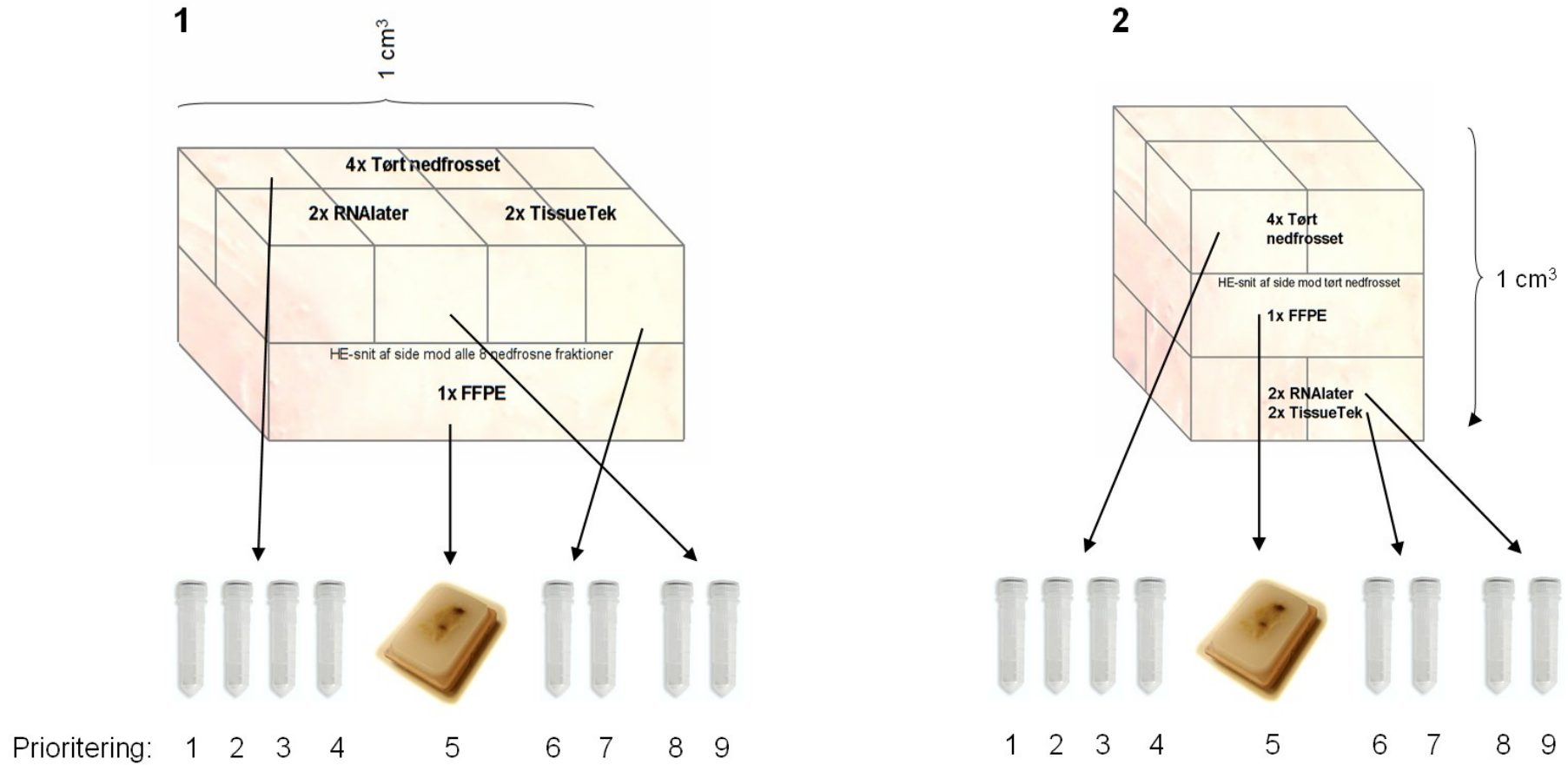
Opbevaring

- Vævsprøver (tørt nedfrosset, O.C.T. Tissue-Tek monteret og RNAlater behandlet) opbevares i -80 °C fryser i bokse i nummererede racks.
- Fryser, racks og bokse mærkes med etiketter udskrevet fra Regionernes Bio- og GenomBanks registreringsmodul (tabel 1).
- Frysere tilkobles alarm for temperaturstigning, og der skal foreligge en instruks for aktion ved driftsstop. Det anbefales endvidere at udarbejde instruks for manuel overvågning af frysere samt at tilslutte frysere et system for enten temperaturlogning, hvor den absolutte temperatur hen over døgnet fremgår, eller et system, hvor evt. afvigelser udover fastsatte grænseværdier kan ses.
- Fyldte vanddunke placeret i en halvtom fryser kan forsinke optøning af prøver i tilfælde af driftsstop.
- En tom -80 °C reservefryser skal være til rådighed til brug ved driftsstop
- Paraffinindstøbte klodser mærket med forkortelse for specifik biobank i Regionernes Bio- og GenomBank f.eks. Dansk CancerBiobank (DCB), opbevares sammen med afdelingens rutine paraffinindstøbte væv.
- H&E farvede snit, anvendt til verifikation, mærkes jvf. ovenstående, gemmes og opbevares sammen med afdelingens øvrige snit, udtaget til diagnostisk brug.

Anbefaling til laboratoriet:

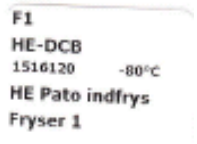
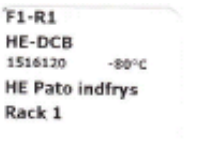
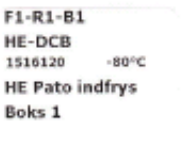
- Det anbefales at bruge handsker ved håndtering af vævs materiale i laboratoriet.
- Gemmeglas bør være forsynet med tætsluttende skruelåg med gummi O-ring. De anbefalede mikrorør og skruelåg er certificeret fri for DNaser, RNaser og humant DNA.
- Se Regionernes Bio- og GenomBanks utensillieliste for vejledende indkøbsinformationer.

Figur 1. Vævsprøver Regionernes Bio- og GenomBank

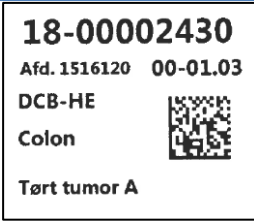


Vævsfraktioner i Regionernes Bio- og GenomBank

Tabel 1. Etiketter til fryser

Fryser	Rack	Boks
		
		Påsættes bund og låg (2 etiketter udskrives automatisk)

Tabel 2. Klargøring af 8 rør + 1 kapsel for hvert fuldt fraktionssæt af tumor- og normalvæv pr. deltager.

Fraktion	Antal	Etiket eksempel	Oplysninger på etiket
Almindelig nedfrysning (tørt)	4		Patologisystem rekv.nr.
Paraffin indstøbt væv	1		afdelingskode, materiale- og fraktionsnummer
O.C.T. Tissue-Tek monteret væv	2		biobankcenter
RNAlater behandlet væv	2		formodet primært organ
			fraktionstype
			2D kode med biobank prøvenummer

Bilag 1



Indsatskort for
kemikalieuheld

Pentaner

33
1265

Kortet omfatter *n-pentan* og *isopentan*.
n-Pentan: Farveløs væske med benzinlignende lugt.
Isopentan: Farveløs væske.

Farlige egenskaber	
<i>Brandfare</i>	Meget brandfarlig. Dampene kan fjernantændes.
<i>Eksplodingsfare</i>	Dampene danner eksplosive blandinger med luft, men i lukkede rum overskrides øvre antændelsesgrænse let.
<i>Indåndingsfare</i>	Sundhedsskadelig.
<i>Sundhedsfare</i>	Sundhedsskadelig.
<i>Forhold over for vand</i>	Væsken er uopløselig i vand og flyder ovenpå.
<i>Miljøfare</i>	Giftig for vandmiljøet. Kan ophobes i miljøet.
<i>Specielle risici</i>	Væsken opløser fedtbelægninger og angriber visse kunststoffer samt materialer af gummi, der indgår i fx pakninger.
Personlig beskyttelse	
<i>Inden for sikkerhedsafstanden</i>	Normal indsatsbeklædning. Ved højere koncentrationer tillige fuld åndedrætsbeskyttelse.
<i>Direkte kontakt</i>	Beskyttelsesdragt, som ifølge producenten er egnet til beskyttelse mod stoffet. Dragten yder kun begrænset beskyttelse mod varmepåvirkning ved brand. Ved brand eller i lukkede rum eller ved højere koncentrationer tillige fuld åndedrætsbeskyttelse.
Indsats	
<i>Sikkerhedsafstand</i>	50 m ved et mindre spild. Benyt gnistfrit værktøj og eksplosionssikret udstyr.
<i>Spild på land</i>	Tildæk afløb. Inddæm med sand eller jord. Afdampning kan mindskes ved dækning med skum. Stands udstømningen. Anvend opsugningsmateriale eller pump/øs spildet op. Opsaml i tætlukkede, egnede beholdere. Rens afløb med store mængder vand. Udluft afløb og lavtliggende områder. Ved spild i afløb underrettes kloakvæsenet, og miljømyndigheden tilkaldes. Ved spild på jord tilkaldes miljømyndigheden.
<i>Spild i vand</i>	Stands udstømningen. Væsken flyder oven på vand. Inddæm og anvend lette, vandskyende opsugningsmaterialer eller pump/øs spildet op. Opsaml i tætlukkede, egnede beholdere. Tilkald miljømyndigheden.
<i>Brand</i>	Sluk brand med skum. Afkøl lukkede beholdere med vand.
<i>Slukningsvand</i>	Væsken flyder ovenpå vand. Denne øverste fase er farligt affald. Afhængig af koncentrationen af stoffet er slukningsvandet farligt affald.
<i>Miljøsanering</i>	Fjern forurenede jord. Rester fjernes ved fordampning.
<i>Materielrengøring</i>	Lufttørring. Smøring af metalgenstande.

©Beredskabsstyrelsen 2004

987

Version	Dato	Ændring
2	10.07.2024	- Revision foretaget da instruksen ellers har været uændret i mere end 3 år - s. 2, Håndtering af fraktioner: <ul style="list-style-type: none">○ tilføjet mulighed for at nedfryse vha. 99 % ethanol○ tilføjet specificering omkring maximum str. på væv i RNAlater
1	29-04-2020	-

Oplysninger om Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB) kan fås ved henvendelse til:
Sekretariatet for Regionernes Bio- og GenomBank, Afdeling for Patologi, Herlev Hospital, Borgmester Ib Juuls Vej 73, Opgang 7, 4. etage, L6, 2730 Herlev. Tlf. (+45): 3868 9132/3868 9812. E-mail: RBGB.sekretariat.herlev-og-gentofte-hospital@regionh.dk