

	Titre :	Préparation des tubes CPT		
	Date de la version :	13 avril 2015	Numéro du document :	SOP_BCP_0004
	Date d'entrée en vigueur :	20 avril 2015		
Site de collecte de données (DCS)	Version :	4.1	Nombre de pages :	11

1.0 Objet

Le présent document a pour objet de décrire la procédure de préparation des tubes CPT, ainsi que la procédure de séparation de cellules mononucléées du sang périphérique humain et de leur cryoconservation subséquente pour entreposage à long terme.

2.0 Portée

Ce document doit être utilisé par tout le personnel de laboratoire des Sites de collecte de données lors de la préparation d'échantillons de sang prélevés dans des tubes CPT.

3.0 Responsabilités

La direction du Site de collecte de données de l'ÉLCV doit fournir au personnel de laboratoire la formation nécessaire sur la sécurité et les procédures de laboratoire. Les fournitures et l'équipement nécessaires doivent être fournis.

Le personnel de laboratoire de l'ÉLCV doit utiliser le matériel et respecter les procédures décrites dans la version à jour approuvée du mode opératoire normalisé, prendre les précautions usuelles et respecter les règlements de sécurité pertinents.

4.0 Documents connexes :

- **CHA_BCP_0003_2** - Boîte d'entreposage Matrix – Emplacement des aliquotes d'échantillons biologiques
- **SOP_BCP_0040** - Fonctionnement et maintenance – BioCision CoolCell
- **SOP_BCP_0037** - Fonctionnement et maintenance – Centrifugeuse Eppendorf 5702R
- **SOP_BCP_0003** - Préparation des échantillons biologiques après le prélèvement
- **SOP_BCP_0034** - Pipette ajustable (100-1 000 µl) Eppendorf – Fonctionnement, entretien et calibrage
- **SOP_BCP_0030** - Fonctionnement, calibrage et entretien du lecteur de codes à barres 2D VisionMate
- **SOP_BCP_0035** - Pipette Eppendorf multi à 12 canaux (0,5-10 µl) – Fonctionnement, entretien et calibrage
- **SOP_BCP_0031** - Capsuleur/décapsuleur à main à 8 canaux – Fonctionnement, entretien et calibrage
- **SOP_BCP_0044** - Fonctionnement et maintenance – Lecteur de code 3500 (CR3500)
- **SOP_BCP_0406** – Spécifique à chaque site – Élimination des déchets
- **MAN_BCP_0217** - Guide d'utilisation du logiciel LabWare

L'utilisation du genre masculin a été adoptée afin de faciliter la lecture et n'a aucune intention discriminatoire.

5.0 Définitions

- **Cellules mononucléées de sang périphérique (CMSP)** : toute cellule dont le noyau est sphérique. Par exemple : les lymphocytes, les monocytes et les macrophages.
- **Tube Vacutainer CPT pour préparation de cellules mononucléées (tube CPT)** : tube sous vide contenant du citrate de sodium, destiné au prélèvement de sang total et à la séparation de cellules mononucléées.

6.0 Équipement

- Lecteur de code à barres Brady Code Reader 3500;
- Centrifugeuse, modèle Eppendorf 5702R avec rotor A-8-17;
- Congélateur, Isotemp à très basse température, installation sous un comptoir;
- Pipette, modèle Research plus d'Eppendorf, volume variable de 100 µl à 1 000 µl;
- Poste de pipetage Flexirack d'Argos;
- Réfrigérateur, modèle 6CADM d'AGA Marvel;
- Lecteur de code à barres 2D pour boîte Visionmate de Thermo Fischer Scientific;
- Lecteur pour tube individuel Visionmate One de Thermo Fischer Scientific;
- Décapsuleur 8 canaux, Thermo Fischer Scientific.

7.0 Fournitures

- Tube conique stérile de 15 ml;
- Gants en nitrile;
- Bac pour déchets liquides;
- Tubes d'entreposage Matrix avec code à barres 2D à bouchon vissé (0,5 ml, fond en V);
- Pipettes de transfert;
- 1x solution saline dans un tampon phosphate (PBS);
- Bac pour déchets pointus et tranchants;
- Petits tampons de gaze hydrophile;
- Tube Vacutainer CPT, rempli;
- Bouchons en plastique 16 mm SAFETY-T-FLEX.

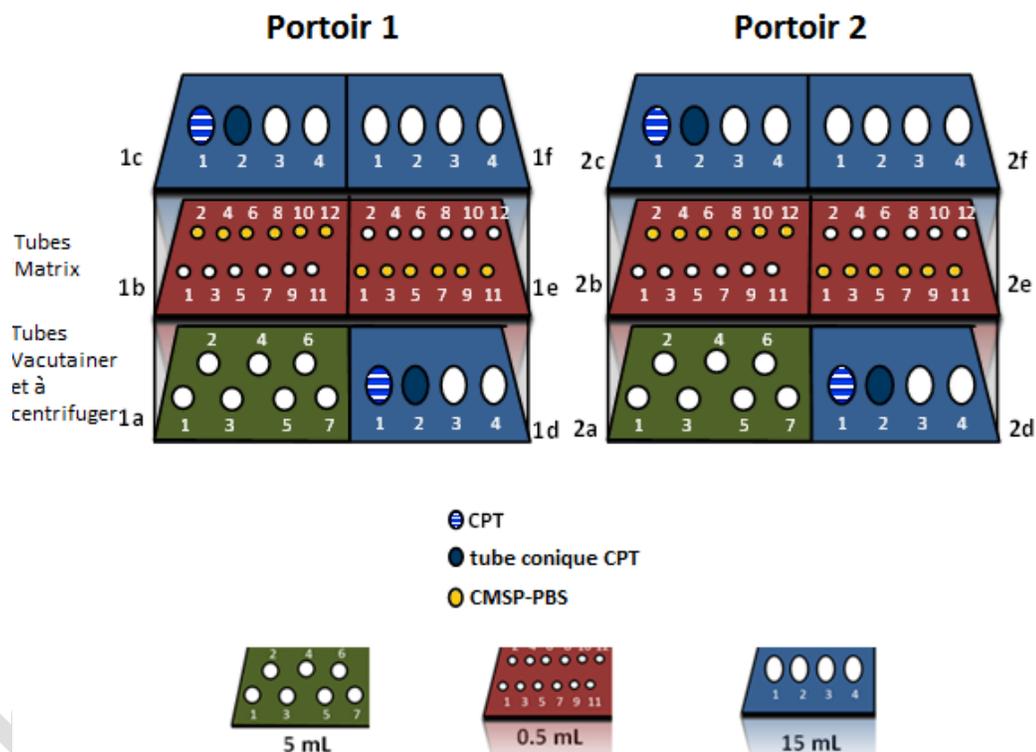
8.0 Marche à suivre Aperçu

Le présent protocole décrit la procédure consistant à séparer le sang en différentes couches et à en extraire la couche de CMSP afin de la laver et l'entreposer. Il importe de remarquer, durant de la séparation des couches, où chaque couche se termine et la suivante commence, afin de ne pas agiter le culot ou les couches de cellules lors de l'aspiration du surnageant. Les tubes CPT doivent être préparés et congelés dans les six heures suivant le prélèvement.

8.1 Préparation

- 8.1.1** Maintenez le tube CPT à la température ambiante en tout temps durant la procédure. Le médium à l'intérieur du tube CPT (Ficoll) n'est efficace pour la séparation des CMSP qu'à la température ambiante.
- 8.1.2** Placez le rotor A-8-17 dans la centrifugeuse au début de la procédure de préparation des tubes CPT.
- 8.1.3** Préparez le poste de pipetage Flexirack. Utilisez les bons inserts et des tubes Matrix vides. Reportez-vous à la figure 1.

Figure 1. Disposition du poste de pipetage Flexirack pour la préparation des tubes CPT.



8.2 Première centrifugation

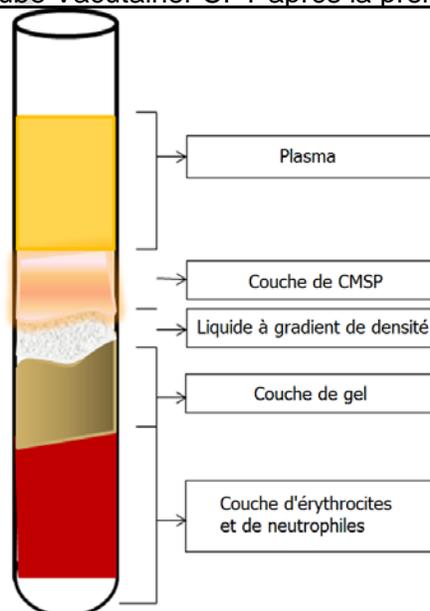
- 8.2.1** Consultez le document *SOP_BCP_0037 - Fonctionnement et maintenance – Centrifugeuse Eppendorf 5702R* pour connaître le mode d'emploi de la centrifugeuse.
- 8.2.2** Retirez le bouchon du tube CPT à l'aide d'un petit tampon de gaze hydrophile et remplacez-le par un bouchon en plastique SAFETY-T-FLEX de 16 mm.
- 8.2.3** Retirez les tubes CPT du poste de pipetage et retournez délicatement chaque tube manuellement de 8 à 10 fois.
REMARQUE : avant la centrifugation, l'échantillon de sang total repose au-dessus de la couche de gel de polyester.

- 8.2.4** Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, sous **Centrifuge Single Sample**, appuyez sur le bouton **Start**.
- 8.2.5** Balayez l'étiquette avec code à barres sur le tube CTP. Assurez-vous que la date et l'heure exactes sont entrées dans la fenêtre contextuelle.
- 8.2.6** Disposez tous les tubes CPT de manière équilibrée dans le rotor A-8-17. Ne disposez pas les tubes directement les uns vis-à-vis des autres. Assurez-vous que les tubes ne se touchent pas et ne touchent pas la paroi de la cuve afin d'éviter les bris quand le rotor tourne.
- 8.2.7** Fermez le couvercle de la centrifugeuse.
- 8.2.8** Centrifugez à 1,5 fcr (1500 g) pendant 20 minutes à 22 °C en **activant** le freinage progressif (réglage SOFT).
- 8.2.9** Ouvrez le couvercle de la centrifugeuse cinq minutes après que cette dernière se soit arrêtée au cas où des tubes se seraient brisés.

REMARQUE : Si vous avez entendu un tube briser pendant la centrifugation, attendez trente minutes avant d'ouvrir la centrifugeuse.

- 8.2.10** Retirez les tubes CPT sans déranger les couches au-dessus de la barrière de gel.
- 8.2.11** Vérifiez si les couches dans les tubes CPT ressemblent au résultat attendu. Reportez-vous à la [figure 2](#).
- 8.2.12** Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, sous **Centrifuge Single Sample**, appuyez sur le bouton **Stop** et balayez le code à barres linéaire sur le tube CPT. Assurez-vous que la date et l'heure exactes sont entrées dans la fenêtre contextuelle.

Figure 2. Aspect du tube Vacutainer CPT après la première centrifugation



8.2.13 Placez le tube dans le poste de pipetage FlexiRack. Voir la [figure 3](#).

8.3 Premier lavage des cellules

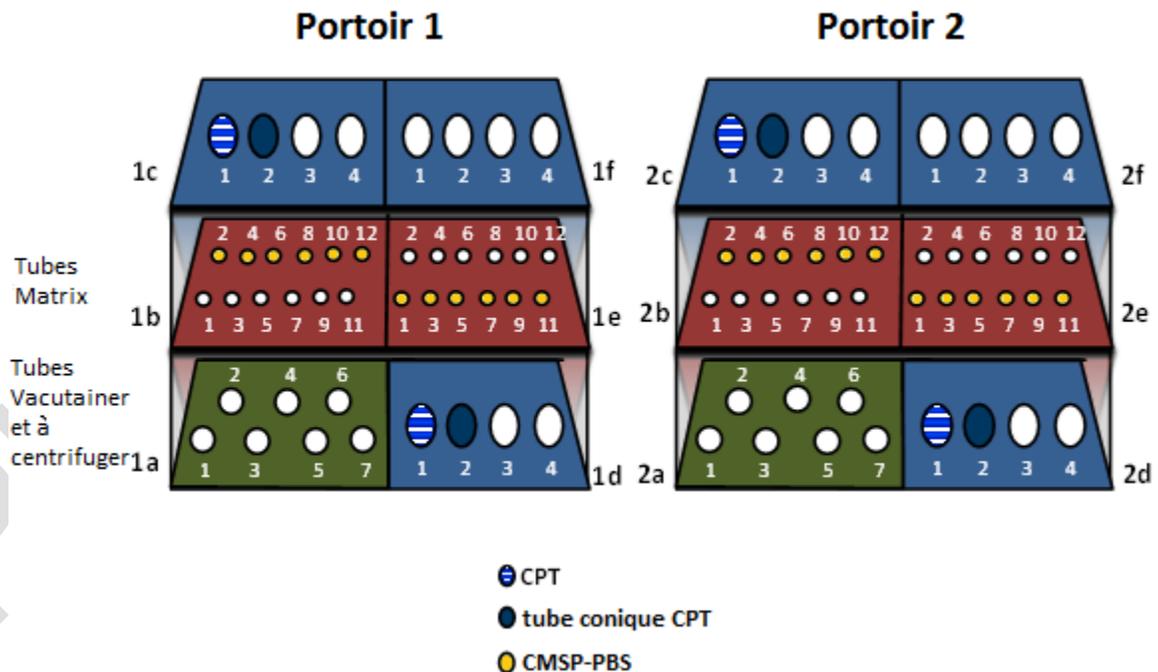
RAPPEL

Pour chaque tube CPT, apposer une étiquette sur un tube conique stérile de 15 ml.

REMARQUE : Il est important d'étiqueter le tube CPT et le tube conique de 15 ml en utilisant des numéros consécutifs d'une colonne d'étiquettes destinées à un seul participant (p. ex. 70029 et 70030). Reportez-vous au document *SOP_DCS_0003 - Préparation des échantillons biologiques après le prélèvement*.

- 8.3.1 Retirez le bouchon en plastique SAFETY-T-FLEX CAP 16 mm du tube CPT.
- 8.3.2 Au moyen d'une pipette de transfert neuve, aspirez lentement la couche de plasma de manière à la faire pénétrer de 1 à 2 mm dans la couche de CMSP. En commençant à la surface du plasma, aspirer cette couche à vitesse constante, en suivant lentement le liquide le long de la paroi du tube, afin de minimiser les mouvements et d'éviter de déranger la couche de CMSP, qui peut, à ce stade, ressembler plus à un « nuage » qu'à une couche distincte.
- 8.3.3 Jetez le plasma dans le bac pour déchets liquides.

Figure 3. Disposition du poste de pipetage Flexirack pour la préparation des tubes CPT.



- 8.3.4 Aspirez soigneusement les phases qui restent au-dessus de la barrière de gel, c'est-à-dire la couche de plasma résiduelle, la couche de lymphocytes et de monocytes et le liquide à gradient de densité, dans le tube conique stérile de 15 ml correspondant. N'aspirez aucune partie de la couche de gel, ce qui risque de se produire, particulièrement si le tube a été agité.

- 8.3.5 Répétez les étapes 8.3.2 à 8.3.5 de la procédure pour chaque tube CPT.
- 8.3.6 Si des particules de la barrière de gel ont été enlevées durant l'aspiration à l'étape 8.3.5, retirez-les maintenant à l'aide d'une pipette de transfert neuve.
- 8.3.7 Versez de la solution PBS dans chaque tube conique stérile de 15 ml étiqueté jusqu'à la ligne de 14 ml.

REMARQUE : Ne versez pas la solution PBS à partir du flacon. À la place, versez-la dans un contenant stérile utilisé pour recueillir l'urine, qui a été étiqueté à cet effet et **que vous jetterez à la fin de la journée.**

- 8.3.8 Versez la solution PBS dans chaque tube conique stérile de 15 ml à partir du contenant utilisé pour recueillir l'urine.
- 8.3.9 Bouchez chaque tube conique et retournez-les une fois manuellement pour mélanger la solution PBS, puisqu'il n'est pas nécessaire d'agiter les cellules pour le lavage.

8.4 Deuxième centrifugation

- 8.4.1 Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, sous **Centrifuge Single Sample**, appuyez sur **Start** et balayez l'étiquette avec code à barres du tube conique de 15 ml. Assurez-vous que la date et l'heure exactes sont entrées dans la fenêtre contextuelle. Répétez cette étape pour chaque tube conique de 15 ml.
- 8.4.2 Disposez les tubes de manière équilibrée dans le rotor A-8-17 de la centrifugeuse et équilibrez-les.
- 8.4.3 Fermez le couvercle de la centrifugeuse.
- 8.4.4 Centrifugez à 1,5 fcr (1500 g) pendant 10 minutes à 22 °C en **désactivant** le freinage progressif (réglage SOFT).
- 8.4.5 Ouvrez le couvercle de la centrifugeuse une fois que cette dernière s'est arrêtée.
Retirez les tubes coniques. Un culot de leucocytes opaque devrait être visible dans le fond des tubes.
- 8.4.6 Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, sous **Centrifuge Single Sample**, appuyez sur **Stop** et balayez le code à barres sur le tube conique de 15 ml. Assurez-vous que la date et l'heure exactes sont entrées dans la fenêtre contextuelle. Répétez cette étape pour chaque tube conique de 15 ml.
- 8.4.7 Placez les tubes coniques dans le poste de pipetage FlexiRack. Voir la [figure 3](#).

8.5 Deuxième lavage des cellules

- 8.5.1 Débouchez les tubes coniques.
- 8.5.2 À l'aide d'une pipette de transfert neuve, aspirez le surnageant de chaque tube conique en n'en laissant pas plus de 1 ou 2 mm au-dessus du culot (la

partie conique du tube), en suivant lentement le liquide le long de la paroi du tube à vitesse constante.

- 8.5.3 Jetez le surnageant dans le bac pour déchets liquides.
- 8.5.4 Remettez doucement les cellules en suspension dans le surnageant restant en aspirant lentement et en relâchant le liquide au moins cinq fois pour soulever et défaire le culot.
- 8.5.5 Répétez les étapes 8.5.2 à 8.5.4 de la procédure pour chaque tube conique.
- 8.5.6 Versez de la solution PBS du contenant utilisé pour recueillir l'urine dans chaque tube conique étiqueté de 15 ml jusqu'à la ligne de 14 ml.
- 8.5.7 Bouchez chaque tube conique et retournez-les une fois manuellement pour mélanger la solution PBS.
- 8.5.8 Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, sous **Centrifuge Second Spin**, appuyez sur **Start** et balayez le code à barres sur le tube conique de 15 ml. Assurez-vous que la date et l'heure exactes sont entrées dans la fenêtre contextuelle. Répétez cette étape pour chaque tube conique de 15 ml.
- 8.5.9 Disposez les tubes de manière équilibrée dans le rotor A-8-17 de la centrifugeuse.
- 8.5.10 Fermez le couvercle de la centrifugeuse.
- 8.5.11 Centrifugez à 1,5 fcr (1500 g) pendant 10 minutes à 22 °C en activant le freinage progressif (réglage SOFT).
- 8.5.12 Ouvrez le couvercle de la centrifugeuse une fois que cette dernière s'est arrêtée.
- 8.5.13 Retirez les tubes coniques. Un culot de leucocytes opaque devrait être visible dans le fond du tube conique.
- 8.5.14 Observez le culot. Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, cliquez sur **Sample Characteristics**. Remplissez les champs comme indiqué dans le *MAN_DCS_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare*.
- 8.5.15 Dans LabWare, à la section **Sample Processing**, sous **Centrifuge Second Spin**, appuyez sur **Stop** et balayez le code à barres sur le tube conique de 15 ml. Assurez-vous que la date et l'heure exactes sont entrées dans la fenêtre contextuelle. Répétez cette étape pour chaque tube conique de 15 ml.

8.6 Aliquotage et congélation des CMSP

- 8.6.1 Débouchez les tubes coniques de 15 ml.
- 8.6.2 Utilisez une pipette de transfert neuve pour aspirer le surnageant de chaque tube conique de 15 ml en n'en laissant pas plus que 1 mm au-dessus du culot (la partie conique du tube).
- 8.6.3 Jetez le surnageant dans le bac pour déchets liquides.

- 8.6.4** À l'aide de la pipette de 1ml, retirez soigneusement le surnageant restant d'un tube conique. Tout le surnageant doit être retiré avant d'ajouter 610 µl de solution PBS, afin d'obtenir une concentration maximale de cellules.
- 8.6.5** En utilisant un embout de pipette neuf, ajoutez 610 µl de solution PBS pour remettre doucement les particules en suspension. Il s'agit de la suspension de CMSP.

REMARQUE : Il est nécessaire d'aspirer et de relâcher le liquide avec la pipette pour défaire la pastille, mais une remise en suspension trop vigoureuse des cellules pourrait les endommager.

- 8.6.6** Répétez les étapes 8.6.4 et 8.6.5 de la procédure pour chaque tube conique de 15 ml.
- 8.6.7** Débouchez les tubes Matrix et placez les bouchons vissés à l'envers sur une surface propre pour éviter toute contamination.
- 8.6.8** À l'aide d'un embout de pipette neuf, ajoutez 400 µl de solution PBS aux 6 tubes d'entreposage Matrix avec code à barres à bouchon vissé pour le premier participant.
- 8.6.9** Pipettez 100 µl de suspension de CMSP et transférez-les dans 6 tubes Matrix avec code à barres à bouchon vissé. Répétez en utilisant un embout de pipette neuf pour chacun des 6 tubes Matrix débouchés à l'étape 8.6.8.
- 8.6.10** Dans LabWare, à l'étape **Aliquoting**, cliquez sur **0.5ml Matrix Tube** et balayez l'étiquette avec code à barres du tube conique de 15 ml. Puis, balayez les 6 tubes CPT Matrix avec solution PBS contenant les aliquotes au moyen du lecteur pour tube individuel.
- 8.6.11** Obtenez une boîte d'entreposage Matrix permanente pour le participant. Cette boîte peut provenir de la salle d'entreposage ou du congélateur, tout dépendant de s'il s'agit du premier, deuxième ou troisième utilisateur pour la boîte.
- 8.6.12** Transférez tous les tubes Matrix remplis provenant du poste de pipetage FlexiRack.
- 8.6.13** Retournez tout tube Matrix inutilisé à l'entreposage en vrac, et enregistrez l'aliquote en tant que « quantité insuffisante » dans LabWare. Reportez-vous au *MAN_BCP_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare*.
- 8.6.14** Mettez le couvercle sur la boîte Matrix et verrouillez-la boîte Matrix.
- 8.6.15** Dans LabWare, à la section **Sample Aliquoting**, cliquez sur **Freeze Samples**. Balayez le code à barres sur le tube conique de 15 ml. Sélectionnez les aliquotes CPT-PBS et vérifiez que le nombre d'aliquotes est exact.
- 8.6.16** Après avoir sélectionné tous les échantillons à congeler, cliquez sur OK.
- 8.6.17** S'il y a un écart quelconque entre le nombre d'aliquotes qui seront entreposées et le nombre d'aliquotes énumérées dans la boîte de dialogue, ou

s'il y a présence d'échantillons affichant la mauvaise heure, veuillez contacter lims@clsa-elcv.ca et créez un billet dans WebIssues.

8.6.18 Dans LabWare, à la section **Sample Aliquoting**, cliquez sur **Scan Matrix Box**; balayez le code à barres de la boîte Matrix. Copiez le contenu des données de la boîte Matrix et collez-les dans la fenêtre contextuelle.

8.6.19 Placez la boîte Matrix dans le congélateur.

Très important : Avant de terminer avec le participant, ouvrez le dossier **Sample Folder** et assurez-vous que les béciers sont pleins pour tous les échantillons préparés. Si un bécier n'est pas plein, procédez aux étapes décrites dans le document *MAN_BCP_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare*. Si le problème ne peut pas être résolu, créez un billet dans WebIssues à l'adresse <https://clsacloud.clsa-elcv.ca/webissues/client>.

8.6.20 Assurez-vous que toute déviation dans les volumes d'aliqotes, hémolyse, lipémie ou autres commentaires relatifs aux échantillons ont été notés dans le logiciel LabWare. Reportez-vous au document *MAN_BCP_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare*.

9.0 Documentation et formulaires

- **CRF_BCP_0001** – Fiche d'observations : Prélèvement de sang
- **LabWare**

10.0 Références

- Encart sur le tube BD Vacutainer CPT pour **préparation** de cellules avec citrate de sodium

Historique des révisions – entrevue initiale :

Numéro de la nouvelle version	Date de la révision	Auteur de la révision	Approbation du contenu
4.0	21 janv. 2014	Chetna Naik	Cynthia Balion
Résumé des modifications			
Correction à l' Étape 8.6.9 : Pipettez 100 µl de suspension de CMSP et transférez-les dans un tube conique de 15 ml 6 tubes Matrix avec code à barres à bouchon vissé . Répétez en utilisant un embout de pipette neuf pour chacun des 6 tubes Matrix débouchés à l'étape 8.6.8.			
Numéro de la nouvelle version	Date de la révision	Auteur de la révision	Approbation du contenu
4.0	21 janv. 2014	Chetna Naik	Cynthia Balion
Résumé des modifications			
Mise à jour du format du document			
Ajout des vitesses de centrifugation en force centrifuge relative (fcr).			
Ajout de la phrase suivante à la Section 8.0 : Les tubes CPT doivent être préparés et congelés dans les six heures suivant le prélèvement.			
Modification de la Figure 1 .			
Modification de la phrase suivante à l' étape 8.2.9 : Ouvrez le couvercle de la centrifugeuse cinq minutes après que cette dernière se soit arrêtée au cas où des tubes se seraient brisés .			
Ajout de la Remarque : Si vous avez entendu un tube briser pendant la centrifugation,			

attendez trente minutes avant d'ouvrir la centrifugeuse.			
Transformation de l'ancienne étape 8.3.1 en rappel . Renumérotation des étapes qui suivent.			
Déplacement de la phrase suivante : « Versez de la solution PBS...la ligne de 14ml » de l'étape 8.3.6 à 8.3.7.			
Ajout de la remarque suivant à l' étape 8.3.8 : Ne versez pas la solution PBS à partir du flacon. À la place, versez-la dans un contenant stérile utilisé pour recueillir l'urine, qui a été étiqueté à cet effet et que vous jetterez à la fin de la journée.			
Ajout de l'étape 8.3.8 : Versez la solution PBS dans chaque tube conique stérile de 15 ml à partir du contenant utilisé pour recueillir l'urine.			
Ajout de la phrase suivant aux étapes 8.4.1, 8.4.6, 8.5.8, 8.5.15 : Répétez cette étape pour chaque tube conique de 15 ml.			
Retrait de l'explication mal formulée sur l'équilibrage des tubes aux étapes 8.4.2 et 8.5.9.			
Retrait de la phrase à l' étape 8.5.6 : Si des particules de la barrière de gel ont été enlevées durant l'aspiration à l'étape 8.3.6, retirez-les maintenant à l'aide d'une pipette de transfert neuve.			
Ajout de la phrase suivant à l' étape 8.5.7 : Bouchez chaque tube conique et retournez-les une fois manuellement pour mélanger la solution PBS.			
Ajout de la phrase suivant à l' étape 8.5.14 : Observez le culot. Dans LabWare, à la section Sample Processing , cliquez sur Sample Characteristics . Remplissez les champs comme indiqué dans le <i>MAN_DCS_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare</i> .			
Clarification de l' étape 8.6.5.			
Clarification de l' étape 8.6.9 : Transférez des aliquotes de Pipettez 100 µl de suspension de CMSP dans 6 tubes Matrix avec code à barres 2D à bouchon vissé pour chaque tube conique et transférez-les dans un tube conique de 15 ml. Répétez en utilisant Utilisez un embout de pipette neuf pour chaque tube conique de suspension de CMSP. pour chacun des 6 tubes Matrix débouchés à l'étape 8.6.8.			
Clarification de l' étape 8.6.15 : Dans LabWare, à la section Sample Aliquoting, cliquez sur Freeze Samples . Balayez le code à barres sur le tube conique de 15 ml ; entrez le numéro de l'entrevue. Sélectionnez les aliquotes CPT-PBS et LabWare affichera une liste des ensembles d'aliquotes qui sont prêts à être congelés. vérifiez que le nombre d'aliquotes est exact. Vérifiez le nombre d'aliquotes pour chaque échantillon et sélectionnez-les tous s'il n'y pas d'écarts.			
Retrait de la phrase suivante à l' étape 8.6.16 : Assurez-vous que la date et l'heure exacte sont entrées dans la fenêtre contextuelle.			
Ajout de la consigne d'ajouter un billet dans WebIssues à l' étape 8.6.17.			
Ajout de la remarque très importante suivante à l' étape 8.6.19 : Avant de terminer avec le participant, ouvrez le dossier Sample Folder et assurez-vous que les béciers sont pleins pour tous les échantillons préparés. Si un bécier n'est pas plein, procédez aux étapes décrites dans le document <i>MAN_BCP_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare</i> . Si le problème ne peut pas être résolu, créez un billet dans WebIssues à l'adresse https://clsacloud.clsa-elcv.ca/webissues/client .			
Retrait de l' étape 8.6.21 : Placez la boîte Matrix dans le congélateur Isotemp à très basse température installé sous un comptoir.			
Numéro de la nouvelle version	Date de la révision	Auteur de la révision	Approbation du contenu
4.0	21 janv. 2014	Chetna Naik	Cynthia Balion
Résumé des modifications			
Mise à jour du format du document			
Ajout des vitesses de centrifugation en force centrifuge relative (fcr).			
Ajout de la phrase suivante à la Section 8.0 : Les tubes CPT doivent être préparés et congelés dans les six heures suivant le prélèvement.			
Modification de la Figure 1.			

<p>Modification de la phrase suivante à l'étape 8.2.9 : Ouvrez le couvercle de la centrifugeuse cinq minutes après que cette dernière se soit arrêtée au cas où des tubes se seraient brisés.</p> <p>Ajout de la Remarque : Si vous avez entendu un tube briser pendant la centrifugation, attendez trente minutes avant d'ouvrir la centrifugeuse.</p>			
<p>Transformation de l'ancienne étape 8.3.1 en rappel. Renumérotation des étapes qui suivent.</p>			
<p>Déplacement de la phrase suivante : « Versez de la solution PBS...la ligne de 14ml » de l'étape 8.3.7 à 8.3.8.</p>			
<p>Ajout de la remarque suivant à l'étape 8.3.8 : Ne versez pas la solution PBS à partir du flacon. À la place, versez-la dans un contenant stérile utilisé pour recueillir l'urine, qui a été étiqueté à cet effet et que vous jetterez à la fin de la journée.</p>			
<p>Ajout de l'étape 8.3.8 : Versez la solution PBS dans chaque tube conique stérile de 15 ml à partir du contenant utilisé pour recueillir l'urine.</p>			
<p>Ajout de la phrase suivant aux étapes 8.4.1, 8.4.6, 8.5.8, 8.5.15 : Répétez cette étape pour chaque tube conique de 15 ml.</p>			
<p>Retrait de l'explication mal formulée sur l'équilibrage des tubes aux étapes 8.4.2 et 8.5.9.</p>			
<p>Retrait de la phrase à l'étape 8.5.6 : Si des particules de la barrière de gel ont été enlevées durant l'aspiration à l'étape 8.3.6, retirez-les maintenant à l'aide d'une pipette de transfert neuve.</p>			
<p>Ajout de la phrase suivant à l'étape 8.5.7 : Bouchez chaque tube conique et retournez-les une fois manuellement pour mélanger la solution PBS.</p>			
<p>Ajout de la phrase suivant à l'étape 8.5.14 : Observez le culot. Dans LabWare, à la section Sample Processing, cliquez sur Sample Characteristics. Remplissez les champs comme indiqué dans le <i>MAN_DCS_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare</i>.</p>			
<p>Clarification de l'étape 8.6.5.</p>			
<p>Clarification de l'étape 8.6.9 : Transférez des aliquotes de Pipettez 100 µl de suspension de CMSP dans 6 tubes Matrix avec code à barres 2D à bouchon vissé pour chaque tube conique et transférez-les dans un tube conique de 15 ml. Répétez en utilisant Utilisez un embout de pipette neuf pour chaque tube conique de suspension de CMSP. pour chacun des 6 tubes Matrix débouchés à l'étape 8.6.8.</p>			
<p>Clarification de l'étape 8.6.15 : Dans LabWare, à la section Sample Aliquoting, cliquez sur Freeze Samples. Balayez le code à barres sur le tube conique de 15 ml; entrez le numéro de l'entrevue. Sélectionnez les aliquotes CPT-PBS et LabWare affichera une liste des ensembles d'aliquotes qui sont prêts à être congelés. vérifiez que le nombre d'aliquotes est exact. Vérifiez le nombre d'aliquotes pour chaque échantillon et sélectionnez-les tous s'il n'y pas d'écarts.</p>			
<p>Retrait de la phrase suivante à l'étape 8.6.16 : Assurez-vous que la date et l'heure exacte sont entrées dans la fenêtre contextuelle.</p>			
<p>Ajout de la consigne d'ajouter un billet dans WebIssues à l'étape 8.6.17.</p>			
<p>Ajout de la remarque très importante suivante à l'étape 8.6.19 : Avant de terminer avec le participant, ouvrez le dossier Sample Folder et assurez-vous que les béciers sont pleins pour tous les échantillons préparés. Si un bécier n'est pas plein, procédez aux étapes décrites dans le document <i>MAN_BCP_0217 – Guide d'utilisation du logiciel LabWare</i>. Si le problème ne peut pas être résolu, créez un billet dans WebIssues à l'adresse https://clsacloud.clsa-elcv.ca/webissues/client.</p>			
<p>Retrait de l'étape 8.6.21 : Placez la boîte Matrix dans le congélateur Isotemp à très basse température installé sous un comptoir.</p>			
New Version #	Revision Date	Revision Author	Content Approval
3.0	2013-JUN-12	Chetna Naik	Cynthia Balion
Summary of Revisions			
SOP was not translated before release of the next version			
Section 4.0 – Added related documents			

Section 7.0- Added plastic Safety-T-Flex Caps to supplies			
8.1.3 – Removed the labeling information to Venipuncture SOP			
8.2.3 – Added info to replace the Vacutainer stopper with plastic Cap.			
LabWare information added to entire document			
8.5.6 – Added details for collecting cells with proper procedure to get maximum concentration of cells			
8.5.8 to 8.5.12 – details for loading the A-8-17 rotor added			
Section 8.6 updated with information for freezing samples and capturing information in LabWare			
New Version #	Revision Date	Revision Author	Content Approval
2.0	2012-SEP-27	Lori Dewar	Cynthia Balion
Summary of Revisions			
SOP was not translated before release of the next version			
Added document numbers throughout document			
Updated supplies in section 4.0 and 7.0			
Added step 8.2.3, 8.5.7, 8.5.9, 8.6.8			
Clarified wording in step 8.2.4, 8.2.11, 8.4.1, 8.4.7, 8.6.7			
Added note under step 8.3.1			