

# Biobanque : pourquoi et comment (I)

Sur Nice il y a une biobanque, donc on parlera aussi de l'expérience niçoise avec les difficultés, le swot (Strength Weakness Opportunity Threat = risque). On peut également projeter que certains enseignements soient évalués sous forme de SWOT. On parle aussi de ce concept dans le domaine des biobanques

## Plan

- I. **Définitions**
- II. **Grands principes**
- III. **Système d'organisation**
- IV. **A propos d'un exemple : la biobanque du CHU de NICE**

**Qu'est-ce qu'un abcès ?** Un abcès est relativement fréquent dans le grand public. Vous en tant que médecin, quand votre voisin vous parle d'un abcès vous devez savoir à quoi ça correspond.

Il faut différencier un abcès d'un empyème : un abcès est une collection de pus dans une cavité néoformée, alors que l'empyème est une collection de pus dans une cavité naturelle.

Tout ça pour dire que les définitions sont le socle de la communication et de la compréhension. C'est un peu comme au collège et au lycée en mathématique : on a des définitions et si on les apprend pas on peut pas répondre au problème.

=> Les définitions sont quelque chose de capital.

### I. Définitions

Il y a beaucoup de termes, et vous savez que quand on a beaucoup de termes pour dire la même chose, ça prête à confusion. Il y a 2 termes qu'il faut retenir vraiment : centre de ressources biologiques et biobanque.

**Biobanque** : c'est un terme que certaines personnes n'aiment pas parce que c'est une traduction française du mot anglais "Biobank". Le prof, lui, trouve que ça parle très bien : c'est une *banque de ressources biologiques*. En France on parle beaucoup de **centre de ressource biologique** (synonyme du mot biobank en anglais).

Quand on dit ressource biologique on parle de toutes les ressources biologiques possibles : humaines, animales, végétales, microbiennes...

Un centre de ressources biologiques peut recueillir plusieurs collections.

D'autres termes ont été inventés :

<i>Tumorothèque</i>	On parle beaucoup de tumorothèque dans le grand public (++) dans l'institut national du cancer qui gère les grands projets sur le cancer en France).
<i>Tissuthèque</i>	C'est un terme un peu moins restrictif qui correspond à une collection de tissus qu'ils soient tumoraux ou inflammatoires.
<i>Cellulothèque</i>	Par exemple une collection de globules blancs ou de moelle osseuse à partir de myélogramme
<i>Sérothèque</i>	
<i>Plasmathèque</i>	
<i>Clinithèque</i>	C'est un terme qui est resté à peu près 6 mois, c'est une mode qui est passée. Ça voulait dire qu'on avait des ressources biologiques et les données cliniques associées.

Tous ces termes sont progressivement devenus obsolète, et globalement on ne se sert que de 3 termes : biobanque, centre de ressource biologique (CRB) et tumorothèque.

Jusqu'à il y a à peu près 8-9 ans, les biobanque n'étaient pas son domaine d'activité en temps que pathologiste. Petit à petit, (en France ça a été plus lentement) en Europe, en Allemagne, aux États-Unis, en Chine, il y a eut une organisation qui s'est faite et les biobanques faisaient partie des 5 grands items qui pourraient changer la phase de l'être humain dans les années à venir (avec l'écologie, l'explosion de l'Afrique et l'ouverture pour le business). C'est à travers les biobanques que les autres grandes avancées en médecine vont pouvoir évoluer. Ça nécessitait une organisation brutale et très professionnelle, qui n'a pas été très bien faite en France, on a donc pris beaucoup de retard par rapport aux autres qui étaient mieux organisés.

Le biobanking est un domaine d'intérêt majeur, mais des personnes plus vieilles que nous n'en ont jamais entendu parler alors que c'est quelque chose qui va nous inspirer dans le futur pour travailler (en tout cas il est persuadé).

## LES CENTRES DE RESSOURCES BIOLOGIQUES (CRB)

Il y a des CRB humains, des microbiologiques et des CRB du règne végétal. Il y en a très peu qui collecte des ressources animales. Il y a très peu de CRB qui collectionne les tumeurs des animaux, il y en a pratiquement pas.

Pour visualiser, il faut se dire qu'un CRB c'est un super Picard avec des règles très strictes et avec des collections de produits biologiques humains. Des fois ça ressemble plus à un magasin dans l'arrière pays niçois où y'a pas grand chose, juste le nécessaire. Des fois la qualité est extrême, et des fois elle est pas bonne.

### 1. CRB ou tumorothèque ??

Y'a un article qui résume qu'est-ce qu'une biobanque en France, ces enjeux et ses contraintes (il devrait le passer...).

On est tous pilotés par des institutions. Dans ce domaine d'activité, il y a 4 institutions : l'INSERM (institut national de la santé et de la recherche médicale), l'OCDE (organisation européenne pour tout ce qui est collection), la DGOS (direction générale de l'offre de soin → on y a affaire quand on travaille à l'hôpital) et l'INCA (institut nationale du cancer).

- *Le mot CRB* a été donné par l'OCDE, donc il est normalement **réservé à des collections destinées aux chercheurs dans un but de faire avancer les connaissances** sur les maladies humaines → c'est uniquement pour la recherche. A l'hôpital on fait des prélèvements pour le diagnostic, et parfois on met un bout de côté, le prélèvement est anonymisé et ça va être placé dans un CRB dans un but de recherche.

- *Le mot tumorothèque* est un peu ambiguë puisqu'initialement il a été créé par l'Inca et la DGOS. Il a une double mission : offre de soin (intérêt immédiat du patient) et offre de recherche (ici, il rejoint la mission des CRB). Cette indication d'offre de soin est en chute libre dans les tumorothèques → on congèle de moins en moins pour les offres de soins → une tumorothèque aujourd'hui a presque uniquement une mission de recherche.

### 2. Objectif des tumorothèques

Pourquoi est-ce qu'on fait une tumorothèque ou un CRB ? Ça coûte très cher ce type de structure (la biobanque de Nice à coûté 2 millions d'euros à l'institution).

- **Objectif médical** : améliorer l'offre de soin en cancérologie (optimiser le traitement en plus du diagnostic anapath classique). Les tumorothèques ont été inventées pour pouvoir bien congeler les tissus (éviter de les faire avec du formol).

- ✦ Répondre à la mise en place des techniques de biomol et de génétique permettant à partir de tissus ou de cellules d'améliorer les possibilités de diagnostic des néoplasies malignes et d'établir leur pronostic
- ✦ Permettre ainsi une optimisation des traitements.

- **Objectif de recherche** (++) :

- ✦ Faciliter l'interface avec les labo de recherche fondamentale et bénéficier des progrès de la biologie pour progresser dans la connaissance physiopatho du cancer
- ✦ Transférer l'acquisition de résultats obtenus à partir de tissus humains à la recherche clinique et à la recherche appliquée

**Il existe différents types de recherche :**

- Recherche fondamentale : culture de cellules in vitro
- Recherche pré-clinique : se fait sur les modèles animaux (souris, singes) : exemple : xénogreffes
- Recherche translationnelle (faite à partir de matériel biologique humain) : on a des collections de tissus et on veut savoir si il y a un marqueur ou un signal à l'intérieur qui permet de corréler ce signal avec la survie du patient → on cherche un facteur pronostic.
- Recherche clinique : on fait des essais thérapeutiques et on compare par rapport à des gens sous placebo ou avec le trt conventionnel.
- Recherche finalisée : on dépose un brevet qui se transforme en licence (le brevet ne sert que si il se transforme en licence → il faut qu'une compagnie achète le brevet pour faire du dvp).

Dans les CRB et le biobank, on fait de la recherche translationnelle → on fait du transfert de connaissances.

## III. Grands principes

### 1. Respect des règles de bioéthique et de la législation française et internationale

Est-ce qu'on a le droit de tout faire sur qq qui rentre à l'hôpital ? Utiliser un morceau de colon qu'on lui a enlevé ou quoi ?  
→ NON on a pas le droit

Loi de 2004 : **Aucun échantillon biologique d'origine humaine ne peut être utilisé à des fins de recherche sans un consentement signé par le patient.** A pasteur il a bcp d'échantillons, mais il est responsable pénal si il s'en sert sans demander de consentement au patient. Évidemment il y a très peu de contrôle, jusqu'au jour où il y en aura. Et si qq se fait avoir, il finit en prison.

**Modalités de recueil des consentements des patients au sein de la tumorothèque et du CRB à Nice :**

- Recueil du consentement avant l'opération chirurgicale
- C'est possible après l'opération : on envoie une enveloppe pré-timbrée au patient, on lui dit qu'on va congeler son truc et on lui demande si on peut l'utiliser et on lui dit que si il ne veut pas on va le détruire.
- C'est possible après la mort : un patient décédé depuis plus de 6 mois, si il n'y a pas eu d'opposition par la famille, on peut utiliser ses prélèvements ; sauf si il s'est opposé de son vivant.

## 2. Qualité des échantillons

Un projet de recherche sera d'autant mieux fait si l'échantillon est de bonne qualité. Si on laisse pdt 4h l'échantillon avant de le traiter, il risque d'être dégradé !

- ✦ **Qualité biologique** = qualité intrinsèque de l'échantillon (acides nucléiques, protéines, etc)
- ✦ **Qualité des annotations cliniques** liées à l'échantillon : données cliniques, biologiques, évolutives. Si on donne à un chercheur 10 cancers du poumons et qu'il veut par exemple corrélérer certains marqueurs avec la survie ou avec le fait que le sujet fume ou pas, il faut des bonnes annotations sur les données cliniques !

## 3. Qualité des structure

Une structure c'est ce qui héberge les échantillons → c'est la qualité de la banque. Il y a des critères de qualité de la structure, ce sont des labels qu'on appelle la certification et l'accréditation.

Il est possible d'être certifié uniquement dans un secteur de la structure : exemple la cafétéria de l'hôpital est certifiée ISO 9001 pour la maintient de la chaîne du froid. Dans un bloc on peut certifier uniquement pour la stérilisation et le circuit des instruments sans qu'on soit certifié pour l'ensemble du bloc

*Accréditation ≠ certifications :*

- **La certification** : concerne le SMQ (système de management de qualité) : on peut être certifié pour produire des roues carrées ou pour commercialiser des gilets de sauvetage avec du plomb. Et on peut faire du très bon management mais qui va aboutir à un produit qui sert à rien.
- **L'accréditation** c'est le SMQ + l'exigence du résultat → c'est le niveau au dessus.

## 4. Contrainte budgétaire :

L'état a donné bcp d'argent aux tumorothèques et aux biobanques pour employer des gens, pour acheter des équipements. En France on a 80 tumorothèques (c'est trop) et l'INCA, la DGOS, l'Inserm se sont aperçu qu'il y a eut bcp trop d'argent donné, et maintenant ils font marche arrière et coupent les vivres. Maintenant il faut rendre des comptes sur des indicateurs de suivi.

## 5. Indicateurs de suivi :

Sur quels critères on rend des comptes ?

- ✦ Est-ce que bcp de gens viennent chercher des échantillons chez nous ?
  - Une biobanque doit collectionner, mais elle doit aussi déstocker ! Dans l'esprit de bcp de biobanquiers, leur état d'esprit c'est l'esprit du collectionneur, et ça c'est pas bon. Un bon biobanquier c'est qq qui collectionne puis qui délivre ses échantillons ! La plupart des biobanques sont en train de grossir ; les frigos sont pleins et on a des milliers d'échantillons qui servent à rien qui sont stockés !
  - L'ICGC (international cancer genom consensium) est un consensium mondial qui vise à séquencer à haut débit toutes les tumeurs. C'est un programme qui coûte très cher (25 000€ l'échantillon) donc il faut des bons critères de qualité. En France il y a dans les frigo des biobanques actuellement 70 000 cancers du seins congelés alors que seulement 3 ont été utilisés pour le programme ICGC. Ça veut dire qu'on collectionne et que ça sortira peut-être pas très bien !
- ✦ Est-ce que les échantillons aboutissent sur qqc (publication)
- ✦ Pourcentage de consentement par rapport au pourcentage de tumeur dans la biobanque : il faut être à 100%, mais la moyenne française c'est 20%.... on a congelé énormément de tissus qu'on ne pourra pas utiliser et qu'on a plus qu'à jeter.

## IV. Système d'organisation

Comment ça marche ??

- **Organisation par thématique d'organe** : si on a beaucoup de demande, il faut faire un tri. il faut voir si dans certains organes, les chir, les onco et les biologistes sont reconnus. Si oui, ils vont ressortir pour des projets de recherche puisque des gens travaillent dessus → il faut choisir des thématiques d'organes où les gens sont intéressés. Mais, il ne faut pas fermer la porte aux gens qui ont de la bonne volonté et qui veulent rajouter d'autre organes aux thématiques, et dans ce cas là on risque d'être saturé → quand on rajoute un organe il faut apporter un budget !
- **Organisation sans a priori** : on congèle tout et on voit après (mais après c'est trop tard, le congélateur est plein)

C'est super important de travailler en réseau. L'intérêt d'être en réseau c'est qu'on va venir nous demander des échantillons. Un réseau permet d'avoir un turn-over.

A Nice on a une structure intégrée dans un contexte hospitalier :

- ✦ **Intégration dans un réseau régional** : exemple des cancérôpôles (le notre PACA : Marseille + Nice)
- ✦ **Intégration dans un réseau national** : exemple de l'inca et de l'inserm
- ✦ **Intégration dans un réseau européen** : exemple des FVP et du BBMRI
- ✦ **Intégration dans un réseau international** : exemple des programmes ITGC (deep sequencing)

## V. A propos d'un exemple : la biobanque du CHU de NICE

On a fait une **structure intégrée** avec d'autres partenaires.

C'est une structure intégrée dans un contexte hospitalier, donc c'est pas facile de travailler : quand un tissu arrive de loin il est plus difficile de gérer sa qualité.

C'est une structure intégrée car la biobank est intégrée et dans un laboratoire de pathologie et dans un laboratoire biologie moléculaire → 3 secteurs travaillent en permanence. Les pièces arrivent encore «chaudes» dans les labo. C'est une architecture groupée avec les services chirurgicaux, le laboratoire de pathologie gère la tumeur quand elle arrive.

Existence d'une **blocothèque** : conservation de blocs de paraffine avec du tissu tumoral mais qui ne vont pas servir au diagnostic. (Le patient doit également signer un consentement). Ça fait aussi partie de la biobank mais ça ne va pas servir au diagnostic. Il est important de tracer tout ce que l'on fait.

#### - Temps d'ischémie:

**Ischémie** = diminution (=ischémie incomplète) ou absence (=ischémie complète) d'arrivée de sang **artériel oxygéné** dans un tissu ou dans un organe. Une ischémie complète prolongée conduit à l'infarctus

**Anoxie** = Sang mal oxygéné. On peut avoir une ischémie incomplète avec un sang hypoxique.

**Temps d'ischémie chaude** = On a clampé l'artère mais on a pas encore enlevé l'organe. Il faut que ce soit assez rapide si non les tissus sont abimés.

**Temps d'ischémie froide** = temps compris entre l'exérèse chirurgicale et le temps que le tissu soit fixé ou congelé. Impact beaucoup sur la qualité, risque d'altération de l'ADN/ARN. Nécessité des contrôles de traçabilité (Le chirurgien met sur le bon l'heure de départ de la pièce du bloc, cela reste très subjectif. Possibilité de mettre en place un système de traçabilité avec micro-puces électroniques qui permettent de suivre le temps écoulé entre la sortie du bloc et l'arrivée au laboratoire)

#### - Températures de conservation des échantillons :

T°= -80° température "normale", la plus classique, coute le moins cher.

T°= -196° pour l'azote liquide pour les culture cellulaire. Les container d'azote sont très volumineux, l'azote liquide est beaucoup moins pratique : risque d'accident ++. Il faut prendre des mesures de précautions (gants..) lorsqu'on manipule de l'azote.

T°= -150° température intermédiaire.

Certains congélateurs sont marqués «infectieux» car le patient est infecté HIV ou hépatite.

#### - Cultures primaires :

Les chercheurs veulent de plus en plus des cellules vivantes issues de la tumeur du patient. Afin d'avoir des cellules vivantes, il faut les cultiver. ( cultures primaires - plasmathèque). Lorsqu'on fait des xénogreffes (= greffes en générale hétérotopiques (transplantation du greffon plus ou moins loin de sa position naturelle, l'organe malade reste en place) elles peuvent être orthotopiques (transplantation du greffon à la place de l'organe malade) : on prélève des cellules humaines que l'on implante sous la peau d'une souris afin de les cultiver)

#### - 2 types de biobank :

- celles qui sont uniquement sécurisées

- celles qui sont sécurisées mais qui peuvent en plus céder des produits dérivés du tissu ( ADN, ARN, .. ) : certaines machines de cette biobank peuvent extraire les acides nucléiques. Lorsqu'on sort le tissu de l'azote, il est dur comme la pierre, il faut le broyer. Avant cela se faisait manuellement et ça prenait des heures. Maintenant, on utilise des billes magnétiques (sorte de mixeur qui broie la pièce).

#### - Contrôle de qualité :

Système de contrôle de qualité des acides nucléiques très important, c'est ce qui va faire la réputation de la biobank. Le contrôle se fait à l'intérieur du laboratoire, des machines permettent de contrôler la qualité de l'ADN, de l'ARN..

#### - Comment recueillir les données ?

Par exemple : c'est un cancer du sein chez une femme de 30ans sans métastase ganglionnaire, adénocarcinome avec 80% de cellules tumorales, antécédents familiale de cancer du sein, ADN ou ARN de qualité ou non .. Chaque patient est associé à environ 550 items. Il faut des **logiciels** très très **puissants**. Afin de pouvoir faire des statistiques, chaque pièce sera associé à environ 250 items ( fumeur ou non, age .. ).

Chaque prélèvement congelé est pesé, on a le nom du pathologiste, les contrôle de qualité, le temps entre le moment où il a été congelé et l'arrivé au laboratoire, la localisation de la tumeur, la qualité de l'ADN, une culture cellulaire, congélation du tissus présumé sein et tumoral, identification, consentement, le prélèvement, son nombre, contrôle morphologique, s'il est associé à une infection VIH ou non..Ce logiciel intègre tout ce qui se rapporte au tissu congelé, au consentement, les data cliniques ( par exemple pour un K de la thyroïde si le patient a été irradié dans son enfance), toutes les données anapath, celles liées à l'ADN..

#### - Techniques associées :

Collection dédiée de **tissus microarray** : va picorer un fragment (de 600micron) de tumeur incluse en paraffine et repositionné dans un fragment de paraffine vierge. On veut faire de l'immunohistochimie sur 400 blocs pour détecter un cancer. Avec la technique de microarray on ne fait qu'une fois la technique d'immunohistochimie pour les 400 patients.

**Microdissection** par capture laser : sert à découper sur un tissu une zone d'intérêt de façon très précise. C'est comme une station de playstation X). A quoi ça sert ? Un tissu est hétérogène ( présence de l'épithélium, du stroma, le lymphocytes et de vaisseaux .. ) si on fait des études d'expression de cycle de génome il faut savoir si ça vient du stroma ou de l'épithélium => la microdissection laser va permettre de sélectionner les compartiments tissulaires.

**FISH** : dans un secteur de pathologie moléculaire il faut un appareil permettant l'hybridation in-situ

**Puce à ADN** : Système sur une seule lame de verre sont «spotés» les séquences du génome humain. On arrive avec l'ADN de la tumeur et on voit l'expression ou l'extinction de certains gènes. Le Labo de Nice scanne les microarray et les transmet à Sophia-Antipolis où une plate-forme de transcriptomique les prend en charge où l'analyse bio-informatique se fait.

Système de **détection des cellules tumorales circulantes**  
Système **ISET**

**Microscopie électronique** : Méthode ancienne mais incontournable dans certains cas : reste certaines indications, assez rares.

Secteur de **Biologie moléculaire** : avec des thermocycleur ( technique de PCR, qPCR et rtPCR), contrôle de la qualité de l'ADN. Appareil récent et important : **Rotorgin** : permet de faire un pré-tri préalable pour savoir si les patients sont mutés sur le bon gène ou pas avant de les séquencer. La **Technique HRM** va permettre de trier les patients mutés.

Technique utilisé par le Pr. dans son Labo : Pyroséquençage = séquençage par la chaleur. Assez facile mais il faut maîtriser la lecture des pyrogrammes. Les principales mutations recherchées dans le labo et dans la biobank sont celles du cancer du poumon, les adénocarcinomes coliques et ils peuvent faire des recherches pour les cancers du sein mais ce n'est pas le but 1<sup>er</sup>.

### Importance des compte rendus :

Toute activité menée dans le labo doit avoir un compte rendu : Date prélèvement, date de la demande (qui ne correspond pas toujours à date du diagnostic), la technique utilisée, la qualité et la signature des ingénieurs, des pathologistes et du responsables de la structure.

Le Pr. nous a présenté une biobank dans une confrontation de ce que l'on appelle : La **biologie intégrative = intégrée** : le métier de pathologiste est en mutation permanente, il faut évoluer très rapidement si on veut comprendre ce qui se fait une fois qu'on a donné l'échantillon à analyser.

Nécessité d'une équipe qualifiée : une qualification qu'on a soit dès le départ soit on l'acquiert, la flexibilité est importante dans une équipe.

Les **Fixateurs** => Ne retenir que le **formol**

Le Labo est une structure très sécurisée : on peut pas rentrer et sortir comme on veut. Il y a plusieurs contrôle : de T°, d'accès au labo, d'alarmes. Tous les équipements sont mis sur une prise ondulée : courant ondulé évite et absorbe les micro-coupures les ordinateurs et congélateurs sont très sensible à ses micro-coupures.

### Indicateurs de suivis mis en place :

- Publications, communications référençant la biobank
- MAJ du site WEB et contrôle des informations : Le labo de Nice a plusieurs sites web : un régional (biobank-paca.com) où on trouve le catalogue.

Une biobank s'est aperçue que 50% de ses échantillons stockés n'avaient pas de consentement, ils ont du les jeter..

La Biobank de Nice intervient dans un réseau national. La tumorothèques nationale est virtuelle : elle est pluri-sites : les échantillons ne sont pas tous centralisés au même endroit.

Réseau **IBISA** : réseau de plate-formes de type biobank, de transcriptome, de génome. Permet la mise en relation des biobank avec le CNG ( Centre National de Génomique ).

Le Pr. espère que son Labo recevra une accréditation d'ici l'an prochain. Différence entre accréditation et certification : l'accréditation est un niveau différent pour la biobank, le labo de bio mol et d'anaph..

Le Labo ne peut pas travailler seul, il a de nombreux partenaires : des académiques et des privés : travail avec l'industrie et ses règles extrêmement strictes, légales.